



# FARMAKOPE OBAT HEWAN INDONESIA

JILID II  
(FARMASETIK DAN PREMIKS)

EDISI 4

DIREKTORAT JENDERAL PETERNAKAN  
DEPARTEMEN PERTANIAN REPUBLIK INDONESIA  
2009



# FARMAKOPE OBAT HEWAN INDONESIA

Jilid II  
(Farmasetik dan Premiks)

Edisi 4

DIREKTORAT JENDERAL PETERNAKAN  
DEPARTEMEN PERTANIAN REPUBLIK INDONESIA  
2009

# Farmakope Obat Hewan Indonesia (Sediaan Farmasetik dan Premiks) Edisi 4

**Penulis :**

Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH)

ISBN : 978-623-91394-2-1

Katalog Dalam Terbitan (KDT). Kementerian Pertanian RI	
615.4:636.09 IND f	Indonesia Kementerian Pertanian RI Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH). Farmakope Obat Hewan Indonesia Sediaan Farmasetik dan Premiks, Jilid 2, Edisi 4/ Tim Penyusun: BBPMSOH. Bogor : BBPMSOH, 2009 xxii, 536 hlm.; index: 539-547 hlm. ill.; 30 cm  ISBN : 978-623-91394-2-1 (jil.2) ISBN : 978-623-91394-0-7 (no.jil.lengkap) I. DRUGS-PHARMACOLOGY-VETERINARY MEDICINE 1. Judul

**Penerbit:**  
BBPMSOH

**Redaksi:**  
Jln. Raya Pembangunan, Gunungsindur,  
Kecamatan Gunungsindur, Kabupaten Bogor 16340  
Tel +621 7560489  
Fax +621 7560466  
Email: [bbpmsoh@pertanian.go.id](mailto:bbpmsoh@pertanian.go.id)

Cetakan pertama, Desember 2009

Hak cipta dilindungi undang-undang  
Dilarang memeprobanyak karya tulis ini dalam bentuk dan dengan cara apapun tanpa ijin  
tertulis dari penerbit.

## Kata Pengantar

Puji syukur kita panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena atas rahmatNya buku Farmakope Obat Hewan Indonesia (FOHI) Jilid II (Farmasetik dan Premiks) Edisi 4 tentang Farmasetik dan Premiks Tahun 2009 dapat disusun dan diterbitkan tepat pada waktunya.

Dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi serta kegiatan standardisasi di semua bidang, khususnya di bidang farmasi standardisasi bahan baku obat, sediaan jadi, metode dan prosedur analisis, maka Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid II (Farmasetik dan Premiks) tahun 2001 sudah tidak memadai lagi sebagai Standar Nasional Indonesia (SNI) di bidang farmasi obat hewan. Oleh karena itu dilakukan revisi terhadap Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid II (Farmasetik dan Premiks) Edisi 2 menjadi Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid II (Farmasetik dan Premiks) Edisi 3 Tahun 2008 sebagai SNI di bidang farmasi obat hewan lebih mutakhir. Pada Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid II (Farmasetik dan Premiks) Edisi 4 Tahun 2009 berisi perubahan yang mendasar baik meliputi substansi, sistematika, persyaratan mutu dan metode pengujian.

Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid II (Farmasetik dan Premiks) Edisi 4 merupakan buku kumpulan standar dalam bidang farmasi terutama untuk bahan baku obat serta sediaan jadinya; sediaan produk biologis; alat kesehatan; metode analisis; prosedur, dan instrumennya; bahan standar; sediaan umum; ketentuan umum dan penerapan standar yang berkaitan dengan standardisasi di bidang farmasi.

Pemilihan monografi bahan baku dan sediaan jadi didasarkan pada ketersediaannya di Indonesia dan yang akan beredar dikemudian hari dengan menggunakan standar dan metode penetapan karakteristik mutu yang disesuaikan dengan standar di negara maju. Dengan demikian FOHI sebagai Standar Nasional Indonesia senantiasa dapat mengikuti perkembangan standar di negara-negara maju. Disamping itu, mengingat Farmakope Obat Hewan Indonesia merupakan Standar Nasional Indonesia, maka penyusunan FOHI Jilid II (Farmasetik dan Premiks) Edisi 4 telah dilaksanakan sesuai pedoman Dewan Standardisasi Nasional (DSN) tentang perumusan Standar Nasional Indonesia.

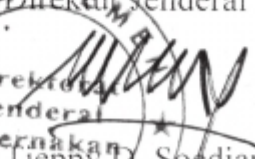
Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid II (Farmasetik dan Premiks) Edisi 4 Tahun 2009 berisi ketentuan umum, monografi umum, monografi bahan baku dan sediaan jadi,serta lampiran yang merupakan informasi dan penjabaran metode analisis dan prosedur pengujian yang terdapat di dalam monografi, yang mencakup pengujian dan penetapan secara umum, mikrobiologi, biologi, kimia dan fisika.


Penyusunan FOHI Jilid II (Farmasetik dan Premiks) Edisi 4 Tahun 2009 ini dilakukan oleh Panitia Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid II (Farmasetik dan Premiks) Edisi 4. Anggotanya terdiri dari pakar-pakar dalam berbagai bidang keahlian, terutama di bidang farmasetik, farmakokinetik, biofarmasi, biologi, mikrobiologi, toksikologi, farmakologi, farmakognosi, fitokomia, imunologi, klinis, medis, kimia farmasi, perundang-undangan, tata bahasa/nama dan standarisasi. Pakar tersebut berasal dari berbagai institusi pemerintah dan swasta seperti unit-unit Departemen Pertanian, Perguruan Tinggi dan ASOHI.

Dengan menerapkan Cara Pembuatan Obat Hewan yang Baik (CPOHB) dan dengan mengacu pada standar mutu dalam Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid II (Farmasetik dan Premiks) Edisi 4, diharapkan produk sediaan farmasi obat hewan Indonesia makin meningkat mutunya dan dapat memberikan jaminan perlindungan terhadap keamanan dan kesehatan masyarakat, sehingga mampu bersaing bukan saja di dalam negeri tetapi juga di dunia internasional. Secara tidak langsung tersusunnya FOHI Jilid II (Farmasetik dan Premiks) edisi 4 ini akan berdampak positif terhadap perkembangan dan peningkatan mutu profesi dokter hewan di Indonesia.

Kepada semua pihak yang telah berperan serta mulai dari sumbangan pemikiran, perumusan kriteria dasar dan isinya sampai dengan tersusunnya FOHI (Farmasetik dan Premiks) Jilid II Edisi 4 Tahun 2009 ini, kami ucapkan banyak terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya.

Jakarta, .....16..Desember... 2009

Direktur Jenderal Peternakan  
  
Ijeppy D. Soedjana  
NIP. 19510312 197603 1 002



**DEPARTEMEN PERTANIAN**  
**DIREKTORAT JENDERAL PETERNAKAN**

---

KEPUTUSAN DIREKTUR JENDERAL PETERNAKAN

NOMOR: 04036/Kpts/OT.160/F/12/2009

TENTANG

PEMBENTUKAN TIM PENYIAPAN NASKAH PERUBAHAN *FARMAKOPE*  
OBAT HEWAN INDONESIA JILID II EDISI 4

DENGAN RAHMAT TUHAN YANG MAHA ESA

DIREKTUR JENDERAL PETERNAKAN,

- Menimbang :
- a. bahwa dalam rangka memberikan petunjuk teknis dalam pembuatan, penyediaan, peredaran, dan pengujian obat hewan telah disusun buku *farmakope* obat hewan Indonesia jilid II edisi 3;
  - b. bahwa dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi di bidang obat hewan, diperlukan standar pengujian mutu obat hewan khususnya sediaan *farmasetik* dan *premixs*;
  - c. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud pada huruf a dan huruf b, perlu membentuk Tim Penyiapan Naskah Perubahan Farmakope Obat Hewan Indonesia Jilid II (Sediaan *Farmasetik* dan *Premiks*) Edisi 4, dengan Keputusan Direktur Jenderal Peternakan;
- Mengingat :
1. Undang-Undang Nomor 8 Tahun 1999 tentang Perlindungan Konsumen (Lembaran Negara Tahun 1999 Nomor 42, Tambahan Lembaran Negara Nomor 3821);
  2. Undang-Undang Nomor 17 Tahun 2003 tentang Keuangan Negara (Lembaran Negara Tahun 2003 Nomor 47, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4286);
  3. Undang-Undang Nomor 1 Tahun 2004 tentang Perbendaharaan Negara (Lembaran Negara Tahun 2004 Nomor 5, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4355);
  4. Undang-Undang Nomor 18 Tahun 2009 tentang Peternakan dan Kesehatan Hewan (Lembaran Negara Tahun 2009 Nomor 84, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5015);
  5. Peraturan Pemerintah Nomor 22 Tahun 1983 tentang Kesehatan Masyarakat Veteriner (Lembaran Negara Tahun 1983 Nomor 28, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4255);
  6. Peraturan Pemerintah Nomor 78 Tahun 1992 tentang Obat Hewan (Lembaran Negara Tahun 1992 Nomor 129, Tambahan Lembaran Negara Nomor 3509);
  7. Peraturan Pemerintah Nomor 102 Tahun 2000 tentang Standardisasi Nasional (Lembaran Negara Tahun 2000 Nomor 28, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4255);

8. Keputusan Presiden Nomor 42 Tahun 2002 tentang Pedoman Pelaksanaan Anggaran Pendapatan Belanja Negara (Lembaran Negara Tahun 2002 Nomor 129, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4214) juncto Keputusan Presiden Nomor 72 Tahun 2004 (Lembaran Negara Tahun 2004 Nomor 92, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4418);
9. Peraturan Presiden Nomor 9 Tahun 2005 tentang Kedudukan Tugas, Fungsi, Susunan Organisasi, dan Tata Kerja Kementerian Negara Republik Indonesia, Juncto Peraturan Presiden Nomor 62 Tahun 2005;
10. Peraturan Presiden Nomor 10 Tahun 2005 tentang Unit Organisasi dan Tugas Eselon I Kementerian Negara Republik Indonesia;
11. Keputusan Presiden Nomor 100/M Tahun 2007 tentang Pemberhentian dan Pengangkatan Pejabat Eselon I di Lingkungan Departemen Pertanian;
12. Keputusan Menteri Pertanian Nomor 808/Kpts/TN260/12/1994 tentang Syarat Pengawasan dan Tata Cara Pengawasan Obat Hewan;
13. Keputusan Menteri Pertanian dan Kehutanan Nomor 455/Kpts/TN.260/8/1996 tentang Tata Cara Pendaftaran dan Pengujian Obat Hewan;
14. Keputusan Menteri Pertanian Nomor 695/Kpts/TN.260/8/1996 tentang Tata Cara Pendaftaran dan Pengujian Obat Hewan;
15. Keputusan Menteri Pertanian 466/Kpts/TN.260/V/1999 tentang Pedoman Cara Pembuatan Obat Hewan Yang Baik, juncto Keputusan Menteri Pertanian Nomor 536/Kpts/PD.650/9/2004;
16. Keputusan Menteri Pertanian Nomor 58/Kpts/OT.210/3/2005 tentang Pelaksanaan Standarisasi Nasional di Bidang Pertanian, juncto Keputusan Menteri Pertanian Nomor 379/Kpts/OT.140/10/2005;
17. Keputusan Menteri Pertanian Nomor 456/Kpts/TN.260/9/2005 tentang Pembuatan Penyediaan, dan/atau Peredaran oleh Lembaga Penelitian, Lembaga Pendidikan Tinggi Pemerintah;
18. Peraturan Menteri Pertanian Nomor 299/Kpts/OT.140/7/2005 tentang Organisasi dan Tata Kerja Departemen Pertanian, jis Peraturan Menteri Pertanian Nomor 11/Permentan/OT.140/2/2007, dan Peraturan Menteri Pertanian Nomor 22/Permentan/OT.140/4/2008;
19. Peraturan Menteri Pertanian Nomor 341/Kpts/OT.210/09/2005 tentang Kelengkapan Organisasi dan Tata Kerja Departemen Pertanian, juncto Peraturan Menteri Pertanian Nomor 12/Permentan/OT.410/2/2007;

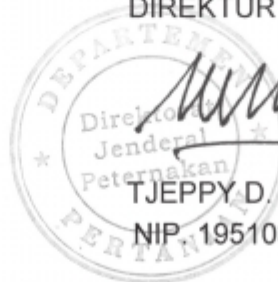
## MEMUTUSKAN:

Menetapkan :

- KESATU : Membentuk Tim Penyiapan Naskah Perubahan *Farmakope* Obat Hewan Indonesia Jilid II Edisi 4, yang selanjutnya dalam Keputusan ini disebut Tim, dengan susunan keanggotaan seperti tercantum pada Lampiran sebagai bagian yang tidak terpisahkan dengan Keputusan ini.
- KEDUA : Tim sebagaimana dimaksud pada diktum KESATU mempunyai tugas:
- I. Pengarah :  
Memberikan arahan dalam penyusunan naskah *farmakope* obat hewan Indonesia jilid II Edisi 4.
  - II. Pelaksanaan:
    - a. menyiapkan bahan yang diperlukan dalam rangka penyusunan naskah *farmakope*;
    - b. melakukan pengkajian dan rapat pembahasan naskah *farmakope*;
    - c. merumuskan hasil pengkajian dan hasil rapat pembahasan untuk disusun dalam naskah *farmakope*;
    - d. menyusun laporan hasil pelaksanaan tugasnya.
- KETIGA : Apabila diperlukan untuk kelancaran pelaksanaan tugas Tim, Ketua Tim dapat menunjuk Pembantu Tim sesuai dengan kebutuhan.
- KEEMPAT : Tim, dalam melaksanakan tugas sebagaimana dimaksud pada diktum KEDUA bertanggung jawab dan wajib menyampaikan laporan secara tertulis kepada Direktur Jenderal Peternakan melalui Kepala Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan.
- KELIMA : Segala Biaya yang diperlukan sebagai akibat ditetapkannya Keputusan ini dibebankan pada DIPA Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan Tahun Anggaran 2009.
- KEENAM : Keputusan ini mulai berlaku pada tanggal ditetapkan.

Ditetapkan di Jakarta  
pada tanggal 4 Desember 2009

DIREKTUR JENDERAL,



TJEPPY D. SOEDJANA

NIP. 19510312 197603 1 002

SALINAN Keputusan ini disampaikan kepada Yth:

1. Menteri Pertanian (sebagai laporan);
2. Sekretaris Jenderal Departemen Pertanian;
3. Inspektur Jenderal Departemen Pertanian;
4. Sekretaris Direktorat Jenderal Peternakan;
5. Ketua Umum Asosiasi Obat Hewan Indonesia.

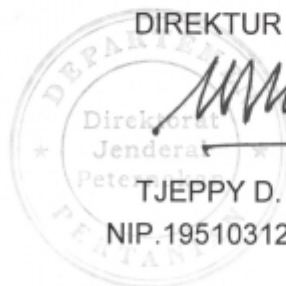


LAMPIRAN KEPUTUSAN DIREKTUR JENDERAL PETERNAKAN  
NOMOR : 04036/Kpts/DT.160/F/12/2009  
TANGGAL : 4 Desember 2009

SUSUNAN KEANGGOTAAN TIM PENYIAPAN NASKAH  
FARMAKOPE OBAT HEWAN INDONESIA JILID II  
EDISI 4

- I. Pengarah : 1. Direktur Jenderal Peternakan  
: 2. Direktur Kesehatan Hewan, merangkap anggota
- II. Pelaksana
- A. Ketua : Kepala Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan
- B. Sekretaris I : Kepala Bidang Sertifikasi dan Pengamanan Hasil Uji, Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan, merangkap anggota
- C. Sekretaris II : Kepala Sub Direktorat Pengawasan Obat Hewan
- D. Anggota : 1. DR. Drs. Harmita, Apt. Fakultas MIPA, Universitas Indonesia;  
2. Drh. Sumadi, M.Si;  
3. Drh. Ni Made Ria Isriyanthi, Ph. D;  
4. Drh. Unang Patriana;  
5. Drh. Sri Werdiningsih;

DIREKTUR JENDERAL,



TJEPPY D. SOEDJANA

NIP.19510312 197603 1 002

DEPARTEMEN PERTANIAN  
DIREKTORAT JENDERAL PETERNAKAN

---

KEPUTUSAN DIREKTUR JENDERAL PETERNAKAN  
NOMOR: 16004/Kpts/OT.160/F/12/2009

TENTANG

PEMBERLAKUAN *FARMAKOPE*  
OBAT HEWAN INDONESIA JILID II EDISI 4

DENGAN RAHMAT TUHAN YANG MAHA ESA

DIREKTUR JENDERAL PETERNAKAN,

- Menimbang :
- a. bahwa dengan Keputusan Direktur Jenderal Peternakan Nomor: 04036/Kpts/OT.160/F/12/2009 telah ditetapkan Pembentukan Tim Penyiapan Naskah Perubahan *Farmakope* Obat Hewan Indonesia Jilid II Edisi 4;
  - b. bahwa untuk menyiapkan perubahan *Farmakope* Obat Hewan Indonesia Jilid II Edisi 4 diperlukan petunjuk teknis standar pengujian mutu obat hewan khususnya sediaan *Farmasetik* dan *Premiks* bagi Balai Besar Pengujian Mutu Obat Hewan atau Pelaku Usaha di bidang *Farmasetik* dan *Premiks*;
  - c. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud pada huruf a dan huruf b, perlu memberlakukan *farmakope* obat hewan Indonesia Jilid II Edisi 4, dengan Keputusan Direktur Jenderal Peternakan;
- Mengingat :
1. Undang-Undang Nomor 8 Tahun 1999 tentang Perlindungan Konsumen (Lembaran Negara Tahun 1999 Nomor 42, Tambahan Lembaran Negara Nomor 3821);
  2. Undang-Undang Nomor 18 Tahun 2009 tentang Peternakan dan Kesehatan Hewan (Lembaran Negara Tahun 2009 Nomor 84, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5015);
  3. Peraturan Pemerintah Nomor 22 Tahun 1983 tentang Kesehatan Masyarakat Veteriner (Lembaran Negara Tahun 1983 Nomor 28, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4255);
  4. Peraturan Pemerintah Nomor 78 Tahun 1992 tentang Obat Hewan (Lembaran Negara Tahun 1992 Nomor 129, Tambahan Lembaran Negara Nomor 3509);
  5. Peraturan Pemerintah Nomor 102 Tahun 2000 tentang Standardisasi Nasional (Lembaran Negara Tahun 2000 Nomor 28, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4255);

6. Peraturan Presiden Nomor 9 Tahun 2005 tentang Kedudukan Tugas, Fungsi, Susunan Organisasi, dan Tata Kerja Kementerian Negara Republik Indonesia, Juncto Peraturan Presiden Nomor 62 Tahun 2005;
7. Peraturan Presiden Nomor 10 Tahun 2005 tentang Unit Organisasi dan Tugas Eselon I Kementerian Negara Republik Indonesia;
8. Keputusan Presiden Nomor 100/M Tahun 2007 tentang Pemberhentian dan Pengangkatan Pejabat Eselon I di Lingkungan Departemen Pertanian;
9. Keputusan Menteri Pertanian Nomor 695/Kpts/TN.260/8/1996 tentang Tata Cara Pendaftaran dan Pengujian Obat Hewan;
10. Keputusan Menteri Pertanian Nomor 466/Kpts/TN.260/V/1999 tentang Pedoman Cara Pembuatan Obat Hewan Yang Baik, juncto Keputusan Menteri Pertanian Nomor 536/Kpts/PD.650/9/2004;
11. Keputusan Menteri Pertanian Nomor 58/Kpts/OT.210/3/2005 tentang Pelaksanaan Standarisasi Nasional di Bidang Pertanian, juncto Keputusan Menteri Pertanian Nomor 379/Kpts/OT.140/10/2005;
12. Keputusan Menteri Pertanian Nomor 299/Kpts/OT.140/7/2005 tentang Organisasi dan Tata Kerja Departemen Pertanian, jis Peraturan Menteri Pertanian Nomor 11/Permentan/OT.140/2/2007, dan Peraturan Menteri Pertanian Nomor 22/ Permentan/ OT.140/4/2008;
13. Peraturan Menteri Pertanian Nomor 341/Kpts/OT.210/09/2005 tentang Kelengkapan Organisasi dan Tata Kerja Departemen Pertanian, juncto Peraturan Menteri Pertanian Nomor 12/Permentan/OT.410/2/2007;
14. Peraturan Menteri Pertanian Nomor 74/ Permentan/ OT.140/12/2007 tentang Pengawasan Obat Hewan;
15. Peraturan Menteri Pertanian Nomor 18/Permentan/OT.140/4/2009 tentang Syarat dan Tata Cara Pemberian Izin Usaha Obat Hewan;
16. Keputusan Direktur Jenderal Peternakan Nomor 04036/kpts/OT.160/F/12/2009 tentang Pembentukan Tim

## MEMUTUSKAN:

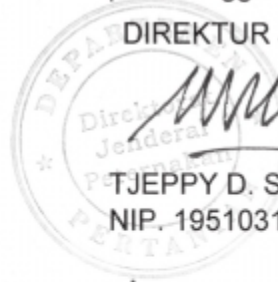
Menetapkan :

KESATU : Memberlakukan *Farmakope* Obat Hewan Indonesia Jilid II Edisi 4 sebagai petunjuk teknis standar pengujian mutu obat hewan, khususnya sediaan *Farmasetik* dan *Premiks* bagi Balai Besar Pengujian Mutu Obat Hewan atau Pelaku Usaha di bidang *Farmasetik* dan *Premiks*, seperti tercantum pada Lampiran sebagai bagian yang tidak terpisahkan dengan Keputusan ini.

KEDUA : Keputusan ini mulai berlaku pada tanggal ditetapkan.

Ditetapkan di Jakarta  
pada tanggal 15 Desember 2009

DIREKTUR JENDERAL,



TJEPPY D. SOEDJANA  
NIP. 19510312 197603 1 002

SALINAN Keputusan ini disampaikan kepada Yth:

1. Menteri Pertanian (sebagai laporan);
2. Menteri Kesehatan;
3. Kepala Badan Pengawasan Obat Hewan dan Makanan;
4. Kepala Badan Standardisasi Nasional;
5. Ketua Umum Asosiasi Obat Hewan Indonesia.



# Daftar Isi

<b>Kata Pengantar</b> .....	
<b>iii</b>	
<b>Daftar Isi</b> .....	<b>xiii</b>
<b>Daftar Sediaan Umum</b> .....	<b>xv</b>
<b>Ketentuan Umum</b> .....	
<b>1</b>	
<b>Monografi Umum</b> .....	
<b>7</b>	
<b>Monografi Baku dan Sediaan</b> .....	<b>27</b>
<b>Monografi Suplemen Nutrisi</b> .....	
<b>359</b>	
<b>Lampiran</b> .....	<b>477</b>
<b>Index</b> .....	<b>537</b>







## **Daftar Sediaan Umum**



## Monografi Umum

1. Sediaan untuk Oral .....	9	7. Sediaan untuk Irigasi .....	16
a. Larutan, Emulsi dan Suspensi Oral .....	9	8. Kapsul .....	17
b. Serbuk dan Granul untuk Larutan dan Suspensi Oral .....	9	a. Kapsul Gelatin Keras .....	17
c. Tetes Oral .....	9	b. Kapsul Cangkang Keras .....	17
d. Serbuk Tetes Oral .....	10	c. Kapsul Cangkang Lunak .....	18
e. Sirup .....	10	9. Obat Herbal .....	18
f. Serbuk dan Granul untuk Sirup .....	10	a. Teh Herbal .....	19
2. Sediaan Cair dan Serbuk untuk Pemakaian pada Kulit .....	10	10. Sediaan Parenteral .....	19
a. Larutan Pekat .....	10	a. Injeksi .....	20
b. Pour-On .....	11	b. Infus .....	20
c. Spot-On .....	11	c. Injeksi atau Infus Pekat .....	20
d. Spray .....	11	d. Serbuk untuk Injeksi atau Infus .....	20
e. Teat Dips .....	11	e. Gel untuk Injeksi .....	21
f. Teat Spray .....	11	f. Implan .....	21
g. Udder-Washes .....	11	11. Sediaan Semisolid .....	21
h. Serbuk Topikal .....	11	a. Salep .....	22
3. Ekstrak .....	12	b. Krim .....	22
a. Ekstrak Cair .....	12	c. Gel .....	22
b. Tingtur .....	13	d. Pasta .....	22
c. Ekstrak Kental .....	13	12. Serbuk Oral .....	22
d. Ekstrak Kering .....	13	13. Serbuk Effervesen .....	23
4. Sediaan Granul .....	13	14. Premiks .....	23
a. Granul Efervesen .....	14	15. Tablet .....	23
b. Granul Salut .....	14	a. Tablet tak Bersalut .....	24
c. Granul Modifikasi Pelepasan .....	14	b. Tablet Salut .....	24
d. Granul Tahan Asam Lambung .....	14	c. Tablet Effervesen .....	24
5. Infus Intramamari .....	14	d. Tablet yang Dilarutkan .....	24
6. Sediaan Intrauterin .....	15	e. Tablet Dispersibel .....	24
a. Tablet Intrauterin .....	15	f. Tablet Orodispersibel .....	24
b. Kapsul Intrauterin .....	16	g. Tablet Modifikasi Pelepasan .....	25
c. Larutan Intrauterin, Suspensi, dan Emulsi Pekat untuk Larutan Intrauterin .....	16	h. Tablet Tahan Cairan Lambung .....	25
d. Tablet untuk Larutan dan Suspensi Intrauterin .....	16	16. Sediaan untuk Mata .....	25
e. Sediaan Semisolid Intrauterin .....	16	a. Tetes Mata .....	25
f. Intrauterin Busa .....	16	b. Sediaan Semisolid untuk Mata .....	26
g. Intrauterin Batang .....	16		

## Monografi Baku dan Sediaan

1. Air Murni .....	29	11. Alfaksalon .....	33
2. Air Murni dalam Bulk .....	29	12. Amitraz .....	34
3. Air Murni dalam Wadah .....	29	13. Amitraz Pekat Cair .....	35
4. Air untuk Injeksi .....	30	14. Amitraz Pour-On .....	36
5. Air untuk Injeksi dalam Bulk .....	30	15. Amitraz Pekat Serbuk .....	36
6. Air untuk Injeksi Steril .....	31	16. Amoksisilin Trihidrat .....	37
7. Albendazol .....	31	17. Amoksisilin Minyak Injeksi .....	39
8. Albendazol Serbuk Oral .....	32	18. Amoksisilin Trihidrat Serbuk Oral .....	40
9. Albendazol Suspensi Oral .....	32	19. Amoksisilin Tablet .....	40
10. Alfadolon Asetat .....	33	20. Ampisilin .....	41

21. Ampisilin Natrium .....	43	80. Dimetridazol .....	98
22. Ampisilin Natrium dan Kloksasilin Natrium Infus Intramamari .....	46	81. Dimetridazol Serbuk Oral .....	98
23. Ampisilin Natrium Injeksi .....	47	82. Dimpilat .....	99
24. Ampisilin Trihidrat .....	47	83. Dinitolmid .....	101
25. Ampisilin Trihidrat dan Kloksasilin Benzatin Infus Intramamari .....	49	84. Dinopros Trometamol .....	101
26. Ampisilin Trihidrat Injeksi .....	50	85. Dipiron .....	103
27. Ampisilin Trihidrat Kapsul .....	51	86. Diprenorfin Hidroklorida .....	104
28. Ampisilin Trihidrat Serbuk Oral .....	51	87. Diprenorfin Injeksi .....	105
29. Ampisilin Trihidrat Tablet .....	52	88. Doksisisiklin Monohidrat .....	105
30. Amprolium Hidroklorida .....	52	89. Doksisisiklin Hiklat .....	107
31. Amprolium dan Etopabat Serbuk Oral .....	53	90. Doksisisiklin Serbuk Oral .....	109
32. Apramisin Sulfat .....	54	91. Enilkonazol .....	110
33. Apramisin Injeksi .....	55	92. Enramisin Hidroklorida .....	111
34. Apramisin Serbuk Oral .....	56	93. Enrofloksasin .....	111
35. Asam Borat .....	57	94. Enrofloksasin Injeksi .....	112
36. Asam Meklofenamat .....	57	95. Enrofloksasin Larutan Oral .....	112
37. Asam Meklofenamat Granul .....	58	96. Eritromisin .....	113
38. Asam Oksolinat .....	58	97. Eritromisin Serbuk Oral .....	115
39. Asam Salisilat .....	60	98. Eritromisin Tablet .....	115
40. Asepromazin Maleat .....	61	99. Estradiol Benzoat .....	115
41. Asepromazin Injeksi .....	61	100. Estradiol Benzoat Injeksi .....	116
42. Asepromazin Tablet .....	62	101. Etamifilin Kamsilat .....	118
43. Atropin Sulfat .....	63	102. Etamifilin Injeksi .....	118
44. Atropin Sulfat Tetes Mata .....	63	103. Etamifilin Serbuk Oral .....	119
45. Atropin Sulfat Injeksi .....	64	104. Etamifilin Tablet .....	119
46. Azaperon .....	64	105. Etinilestradiol .....	119
47. Azaperon Injeksi .....	65	106. Etinilestradiol Tablet .....	121
48. Basitrasin .....	66	107. Etoksikuin .....	121
49. Basitrasin Seng .....	68	108. Etopabat .....	122
50. Basitrasin Serbuk Oral .....	69	109. Etorfin Hidroklorida .....	123
51. Benzalkonium Klorida .....	70	110. Etorfin dan Asepromazin Injeksi .....	123
52. Benzalkonium Klorida Larutan .....	70	111. Etorfin dan Levomepromazin Injeksi .....	124
53. Benzilpenisilin Kalium .....	71	112. Febantel .....	125
54. Benzilpenisilin Natrium .....	73	113. Fenbendazol .....	126
55. Benzilpenisilin Injeksi .....	75	114. Fenbendazol Granul .....	127
56. Bromheksin Hidroklorida .....	76	115. Fenbendazol Pasta .....	128
57. Butilhidroksianisol .....	77	116. Fenbendazol Serbuk Oral .....	128
58. Butil Hidroksibenzoat .....	78	117. Fenbendazol Suspensi Oral .....	128
59. Butilhidroksitoluen .....	79	118. Fenilbutazon .....	129
60. Dekokuinat .....	79	119. Fenilbutazon Tablet .....	130
61. Dekokuinat Serbuk Oral .....	80	120. Fenobarbital Natrium .....	131
62. Deksametason Asetat .....	80	121. Fenobarbital Natrium Injeksi .....	132
63. Deksametason Natrium Fosfat .....	82	122. Fenobarbital Natrium Tablet .....	133
64. Deksametason Injeksi .....	84	123. Fenol .....	133
65. Deksametason Tablet .....	85	124. Fenol Cair .....	134
66. Deltametrin .....	85	125. Fention .....	134
67. Deltametrin Pour-On .....	86	126. Fluanison .....	135
68. Detomidin Hidroklorida .....	87	127. Flubendazol .....	136
69. Diaveridin .....	88	128. Flubendazol Suspensi Oral .....	137
70. Difenhidramin Hidroklorida .....	88	129. Flumekuin .....	137
71. Difenhidramin Larutan Oral .....	89	130. Fluniksin Meglumin .....	138
72. Dihidrostreptomisin Sulfat .....	90	131. Fluprostenol Natrium .....	139
73. Dihidrostreptomisin Injeksi .....	91	132. Fluprostenol Natrium Injeksi .....	140
74. Diklazuril .....	92	133. Formalin .....	140
75. Diklazuril Serbuk Oral .....	93	134. Fosfomisin Kalsium .....	141
76. Dikloksasilin Natrium .....	94	135. Fosfomisin Natrium .....	142
77. Diklorofen .....	96	136. Fosfomisin Trometamol .....	143
78. Diklorofen Tablet .....	97	137. Framisetin Sulfat .....	145
79. Dimetikon .....	97	138. Furaltadon .....	146
		139. Furazolidon .....	147
		140. Furazolidon Serbuk Oral .....	147

## Daftar Sediaan Umum

141. Gentamisin Sulfat .....	148	201. Lindan .....	198
142. Gentamisin Injeksi .....	149	202. Linkomisin Hidroklorida .....	198
143. Glutaraldehid Larutan Pekat .....	150	203. Linkomisin Injeksi .....	199
144. Glutaraldehid Larutan .....	151	204. Linkomisin Serbuk Oral .....	200
145. Griseofulvin .....	151	205. Malation .....	201
146. Griseofulvin Serbuk Oral .....	152	206. Megestrol Asetat .....	202
147. Heksaklorofen .....	153	207. Megestrol Tablet .....	203
148. Hidrat Aluminium Magnesium Silikat .....	153	208. Meloksikam .....	204
149. Hidrokortison .....	154	209. Meloksikam Suspensi Oral .....	205
150. Homatropin Hidrobromida .....	157	210. Mepivakain Hidroklorida .....	206
151. Homatropin Tetes Mata .....	158	211. Mepivakain Injeksi .....	207
152. Iodium .....	158	212. Metenamin .....	208
153. Iodium Larutan Lugol's .....	159	213. Metiltestosteron .....	209
154. Iodium Tingtur Larutan .....	159	214. Metiltestosteron Tablet .....	210
155. Ivermektin .....	160	215. Metronidazol .....	210
156. Ivermektin Injeksi .....	162	216. Metronidazol Injeksi .....	211
157. Ivermektin Pasta .....	163	217. Dimetridazol Serbuk Oral .....	212
158. Ivermektin Pour-On .....	163	218. Metronidazol Suspensi Injeksi .....	212
159. Josamisin .....	163	219. Metronidazol Tablet .....	212
160. Kanamisin Sulfat .....	164	220. Morantel Hidrogen Tartrat .....	213
161. Kaolin .....	165	221. Morantel Serbuk Oral .....	214
162. Kaolin Suspensi Oral .....	166	222. Nandrolon Laurat .....	215
163. Karbaril .....	167	223. Nandrolon Laurat Injeksi .....	215
164. Katecu .....	167	224. Neomisin Sulfat .....	216
165. Katecu Tingtur .....	168	225. Neomisin Sulfat Serbuk Oral .....	217
166. Ketamin Hidroklorida .....	168	226. Nikarbazin .....	218
167. Ketamin Injeksi .....	169	227. Nikarbazin Serbuk Oral .....	219
168. Klazuril .....	170	228. Niklosamid Anhidrat .....	219
169. Klindamisin Hidroklorida .....	171	229. Niklosamid Monohidrat .....	220
170. Klindamisin Injeksi .....	172	230. Niklosamid Serbuk Oral .....	221
171. Klindamisin Kapsul .....	173	231. Niklosamid Tablet .....	222
172. Klindamisin Serbuk Oral .....	174	232. Nistatin .....	223
173. Kloksasilin Benzatin .....	174	233. Nistatin Serbuk Oral .....	224
174. Kloksasilin Benzatin Infus Intramamari .....	175	234. Nistatin Tablet .....	224
175. Kloksasilin Natrium .....	175	235. Nitroksinil .....	224
176. Kloksasilin Natrium Infus Intramamari .....	177	236. Nitroksinil Injeksi .....	225
177. KlopidoL .....	178	237. Norfloksasin .....	225
178. KlopidoL Serbuk Oral .....	178	238. Norfloksasin Larutan Oral .....	226
179. Klorostenol Natrium .....	179	239. Ofloksasin .....	227
180. Klorostenol Injeksi .....	179	240. Ofloksasin Larutan Oral .....	228
181. Kloramfenikol Natrium Suksinat .....	180	241. Oksfendazol .....	228
182. Kloramfenikol Injeksi .....	181	242. Oksfendazol Suspensi Oral .....	229
183. Klorheksidin Hidroklorida .....	182	243. Oksiklozanid .....	230
184. Klorokresol .....	183	244. Oksiklozanid Suspensi Oral .....	231
185. Klortetrasiklin Hidroklorida .....	184	245. Oksitetrasiklin Hidroklorida .....	231
186. Klortetrasiklin Kapsul .....	185	246. Oksitetrasiklin Infus Intramamari .....	233
187. Klortetrasiklin Serbuk Oral .....	186	247. Oksitetrasiklin Injeksi .....	234
188. Klortetrasiklin Tablet .....	186	248. Oksitetrasiklin Kapsul .....	235
189. Klosantel Natrium Dihidrat .....	187	249. Oksitetrasiklin Serbuk Oral .....	236
190. Kolistimetat Natrium .....	188	250. Oksitetrasiklin Tablet .....	237
191. Kolistimetat Injeksi .....	189	251. Oksitosin .....	237
192. Kolistin Sulfat .....	190	252. Oksitosin Injeksi .....	239
193. Kolistin Serbuk Oral .....	192	253. Olakuindok .....	239
194. Levamisol Hidroklorida .....	193	254. Olakuindok Serbuk Oral .....	240
195. Levamisol Injeksi .....	194	255. Papaverin Hidroklorida .....	240
196. Levamisol Larutan Oral .....	194	256. Papaverin Injeksi .....	242
197. Levamisol Serbuk Oral .....	195	257. Parasetamol .....	242
198. Levomepromazin .....	196	258. Parasetamol Serbuk Oral .....	244
199. Lidokain Hidroklorida .....	196	259. Parasetamol Tablet .....	244
200. Lidokain Injeksi .....	197	260. Pilokarpin Hidroklorida .....	245
		261. Pilokarpin Tetes Mata .....	247
		262. Piperazin Adipat .....	247

263.	Piperazin Fosfat .....	248	324.	Spektinomisin Dihidroklorida	
264.	Piperazin Hidrat .....	249		Pentahidrat .....	298
265.	Piperazin Sitrat .....	250	325.	Spektinomisin Injeksi .....	300
266.	Piperazin Kapsul .....	250	326.	Spektinomisin Serbuk Oral .....	301
267.	Piperazin Larutan Oral .....	251	327.	Spiramisin .....	301
268.	Piperazin Tablet .....	251	328.	Spiramisin Serbuk Oral .....	303
269.	Piperonil Butoksida .....	252	329.	Streptomisin Sulfat .....	305
270.	Pirantel Pamoat .....	252	330.	Streptomisin Sulfat Injeksi .....	306
271.	Pirantel Serbuk Oral .....	253	331.	Sulfadiazin .....	307
272.	Bunga Piretrum .....	253	332.	Sulfadiazin Natrium .....	308
273.	Piretrum Ekstrak .....	255	333.	Sulfadiazin dan Trimetoprim Injeksi .....	308
274.	Piretrum Serbuk Halus .....	255	334.	Sulfadiazin dan Trimetoprim	
275.	Piretrum Spray .....	255		Serbuk Oral .....	309
276.	Pirimetamin .....	256	335.	Sulfadiazin dan Trimetoprim	
277.	Pisostigmin Sulfat .....	257		Suspensi Oral .....	310
278.	Pisostigmin Tetes Mata .....	258	336.	Sulfadiazin dan Trimetoprim Tablet .....	311
279.	Povidon Iodium .....	258	337.	Sulfadimetoksin .....	311
280.	Povidon Iodium Larutan .....	258	338.	Sulfadimidin .....	311
281.	Prazikuantel .....	259	339.	Sulfadimidin Natrium .....	312
282.	Prednisolon .....	260	340.	Sulfadimidin Injeksi .....	313
283.	Prednisolon Asetat .....	261	341.	Sulfadimidin dan Trimetoprim	
284.	Prednisolon Natrium Fosfat .....	263		Suspensi Oral .....	314
285.	Prednisolon Injeksi .....	264	342.	Sulfadimidin Tablet .....	314
286.	Prednisolon Tablet .....	266	343.	Sulfadoksin .....	315
287.	Progesteron .....	267	344.	Sulfadoksin dan Trimetoprim Injeksi .....	316
288.	Progesteron Implan .....	268	345.	Sulfadoksin dan Trimetoprim Tablet .....	317
289.	Progesteron Injeksi .....	269	346.	Sulfaguanidin .....	318
290.	Prokain Benzilpenisilin .....	269	347.	Sulfakuinoksalin .....	319
291.	Prokain Benzilpenisilin Infus		348.	Sulfakuinoksalin Larutan Oral .....	319
	Intramamari .....	271	349.	Sulfakuinoksalin dan Diaveridin	
292.	Prokain Benzilpenisilin Injeksi .....	272		Serbuk Oral .....	320
293.	Prokain Benzilpenisilin G Injeksi .....	273	350.	Sulfakuinoksalin dan Pirimetamin	
294.	Fenoksimetilpenisilin .....	273		Larutan Oral .....	321
295.	Fenoksimetilpenisilin Kalium Tablet .....	275	351.	Sulfamerazin .....	321
296.	Prometazin Hidroklorida .....	275	352.	Sulfametizol .....	322
297.	Prometazin Injeksi .....	276	353.	Sulfametoksazol .....	323
298.	Prometazin Tablet .....	277	354.	Sulfametoksazol dan Trimetoprim	
299.	Ronidazol .....	278		Suspensi Oral .....	324
300.	Salisilat Natrium .....	278	355.	Sulfametokspiridazin .....	325
301.	Sarafloksasin Hidroklorida .....	279	356.	Sulfametokspiridazin Injeksi .....	326
302.	Sefalekssin Monohidrat .....	279	357.	Sulfametokspiridazin Tablet .....	327
303.	Sefalekssin Kapsul .....	281	358.	Sulfanilamid .....	327
304.	Sefalekssin Suspensi Oral .....	282	359.	Sulfatiazol Natrium .....	328
305.	Sefalonium .....	282	360.	Sulfatiazol Tablet .....	329
306.	Sefalonium Infus Intramamari .....	283	361.	Testosteron .....	329
307.	Sefalonium Salep Mata .....	284	362.	Testosteron Fenilpropionat .....	331
308.	Sefalotin Natrium .....	285	363.	Testosteron Implan .....	331
309.	Sefapirin Natrium .....	286	364.	Testosteron Injeksi .....	332
310.	Sefoperazon Natrium .....	287	365.	Tetramisol Hidroklorida .....	332
311.	Serum Gonadotrofin .....	289	366.	Tetramisol Serbuk Oral .....	333
312.	Serum Gonadotrofin Injeksi .....	289	367.	Tetrasiklin .....	334
313.	Serum Korionik Gonadotrofin Injeksi .....	290	368.	Tetrasiklin Hidroklorida .....	335
314.	Setilpiridinium Klorida .....	290	369.	Tiabendazol .....	337
315.	Setilpiridinium Klorida Larutan .....	291	370.	Tiabendazol Serbuk Oral .....	338
316.	Setrimid .....	291	371.	Tiabendazol Suspensi Oral .....	338
317.	Setrimid Larutan .....	292	372.	Tiabendazol Tablet .....	339
318.	Silazin Hidroklorida .....	292	373.	Tiamulin Hidrogen Fumarat .....	339
319.	Simetikon .....	293	374.	Tiamulin Serbuk Oral .....	341
320.	Siprofloksasin .....	294	375.	Tilosin .....	342
321.	Siprofloksasin Hidroklorida .....	296	376.	Tilosin Fosfat .....	344
322.	Siprofloksasin Larutan Oral .....	297	377.	Tilosin Tartrat .....	345
323.	Siprofloksasin Serbuk Oral .....	298	378.	Tilosin Injeksi .....	346

379. Tilosin Serbuk Oral .....	347	385. Trenbolon Asetat .....	352
380. Tilosin Tablet .....	348	386. Trenbolon Implan .....	353
381. Tilosin Tartrat dan Sulfatiazol Natrium Serbuk Oral .....	349	387. Triklorfon .....	353
382. Tiopental Natrium .....	350	388. Trimetoprim .....	354
383. Tiopental Injeksi .....	351	389. Valnemulin Hidroklorida .....	356
384. Toltrazuril .....	351	390. Virginiamisin .....	357

## Monografi Suplemen Nutrisi

1. Arginin Hidroklorida .....	361	35. Vitamin A .....	390
2. Asam Aspartat .....	362	36. Vitamin B <sub>1</sub> .....	392
3. Asam Folat .....	363	37. Vitamin B <sub>2</sub> .....	393
4. Asam Nikotinat .....	364	38. Vitamin B <sub>6</sub> .....	394
5. Besi Dekstran .....	365	39. Vitamin B <sub>12</sub> .....	395
6. Besi Dekstran Injeksi .....	365	40. Vitamin B <sub>12</sub> Injeksi .....	396
7. Biotin .....	366	41. Vitamin D (Kolekalsiferol) .....	397
8. Fenilalanin .....	367	42. Vitamin D <sub>2</sub> (Ergokalsiferol) .....	398
9. Histidin Hidroklorida .....	368	43. Vitamin E (α-Tokoferol) .....	400
10. Isoleusin .....	369	44. Vitamin K (Menadion) .....	401
11. Kalsium Boroglukonat .....	370	45. Vitamin K <sub>3</sub> (Menadion Sodium Bisulfit) .....	402
12. Kalsium Boroglukonat Injeksi .....	370	46. Mineral Serbuk Oral .....	403
13. Kalsium Glukonat .....	371	47. Vitamin Larut Air Kapsul .....	408
14. Kalsium Pantotenat .....	372	48. Vitamin Larut Air dan Lemak Larutan Oral .....	411
15. Kalsium Tembaga Edetat .....	373	49. Vitamin Larut Air dan Mineral .....	416
16. Kalsium Tembaga Edetat Injeksi .....	374	50. Vitamin Larut Air dan Mineral Kapsul .....	416
17. Leusin .....	374	51. Vitamin Larut Air dan Mineral Larutan Oral .....	418
18. Lisin Hidroklorida .....	375	52. Vitamin Larut Air dan Mineral Tablet .....	419
19. Magnesium Aspartat Dihidrat .....	376	53. Vitamin Larut Air, Lemak dan Mineral .....	421
20. Metionin .....	377	54. Vitamin Larut Air, Lemak dan Mineral Larutan Oral .....	421
21. Natrium Kalsium Edetat .....	378	55. Vitamin Larut Air, Lemak dan Mineral Kapsul .....	425
22. Natrium Kalsium Edetat Infus .....	379	56. Vitamin Larut Air, Lemak dan Mineral Serbuk Oral .....	439
23. Natrium Klorida .....	379	57. Vitamin Larut Air, Lemak dan Mineral Tablet .....	454
24. Natrium Sitrat .....	380	58. Vitamin Larut Lemak .....	473
25. Natrium Klorida dan Natrium Sitrat Infus Intravena .....	381	59. Vitamin Larut Lemak Kapsul .....	473
26. Nikotinamid .....	381	60. Vitamin Larut Lemak Tablet .....	474
27. Prolin .....	382		
28. Kalium Selenat .....	383		
29. Selenit Natrium .....	383		
30. Sistein Hidroklorida .....	384		
31. Tirosin .....	385		
32. Treonin .....	386		
33. Triptofan .....	387		
34. Valin .....	389		

## Lampiran

1. Elektroforesis .....	479	4. Kejernihan dan Tingkat Opalesensi Cairan tak Berwarna .....	481
a. Elektroforesis Kertas .....	479	a. Kejernihan dan Opalesensi .....	481
b. Elektroforesis Agar Gel .....	479	b. Tingkat Warna Cairan .....	481
2. Fluorometri .....	480	5. Kromatografi .....	483
3. Fotometri Nyala .....	480		

---

6. Kromatografi Jerap .....	483	c. Selulase .....	498
7. Kromatografi Pembagian .....	483	d. Pektinase .....	499
8. Kromatografi Kertas .....	483	e. $\beta$ -Glukanase .....	500
a. Kromatografi Kertas Menurun .....	484	f. Pululanase .....	501
b. Kromatografi Kertas Menaik .....	485	16. Penetapan Hayati Antibiotik .....	501
9. Kromatografi Lapis Tipis .....	485	17. Penetapan Kadar Air .....	508
10. Kromatografi Gas .....	486	18. Penetapan Susut Pengeringan .....	508
11. Kromatografi Cair .....	488	19. Pereaksi .....	508
12. Larutan Volumetrik .....	490	20. Reaksi Identifikasi .....	514
13. Pembakaran Labu Oksigen .....	494	21. Spektrofotometri .....	518
14. Pemeriksaan Steroid .....	495	22. Standar .....	520
a. Uji Terhadap Steroid Asing .....	495	23. Titrasi .....	520
b. Penetapan Kadar Steroid .....	496	24. Uji Batas .....	522
c. Penetapan Kadar Steroid Tunggal .....	496	25. Uji Keamanan Hayati .....	528
15. Penetapan Aktivitas Enzim .....	496		
a. $\alpha$ -Amilase dan $\beta$ -Amilase .....	496		
b. Protease .....	497		



## **KETENTUAN UMUM**



Ketentuan umum memuat azas, batasan dan penjelasan yang dapat dijadikan petunjuk dasar untuk menafsirkan persyaratan prosedur pembakuan, cara pengujian dan persyaratan lain yang sering dijumpai dalam paparan, terutama paparan monografi. Dihimpun demikian dengan maksud agar tidak perlu berulang kali menyebutkan lagi uraian tersebut dalam paparan monografi dan lampiran. Kadang kadang dikehendaki ketentuan dalam paparan yang uraiannya agak berbeda dengan yang disebutkan dalam ketentuan umum. Untuk menyatakan adanya perbedaan ini, uraian ketentuan yang bersangkutan diawali atau disisipi kalimat “*kecuali dinyatakan lain.*”

### 1. Judul

Judul lengkap buku ini adalah Farmakope Obat Hewan Indonesia disingkat FOHI. Selama buku ini berlaku, jika disebutkan Farmakope Obat Hewan tanpa penjelasan lain, maka yang dimaksud adalah Farmakope Obat Hewan Indonesia.

### 2. Zat resmi, bahan baku resmi dan sediaan resmi

Yang dimaksud dengan zat resmi, bahan baku resmi dan sediaan resmi didalam ketentuan umum ini adalah zat, bahan baku obat hewan dan sediaan yang monografinya dimuat dalam farmakope ini.

### 3. Tata nama

Monografi ditulis berturut turut nama Indonesia dan nama Inggris atau Latin.

Nama garam ditulis dengan menyebutkan nama bagian basanya dalam bentuk genitif, diikuti nama bagian asamnya dalam bentuk nominatif. Untuk senyawa yang diturunkan dari asam yang tidak sesungguhnya kedua bagiannya ditulis dalam bentuk nominatif, dengan memperlakukan bagian lainnya dalam bentuk yang sesuai dengan kata benda ini. Nama simplisia nabati ditulis dengan menyebutkan genus, spesies atau seluruh nama Latin tanaman, diikuti nama bagian tanaman yang digunakan. Ketentuan ini tidak berlaku untuk simplisia nabati yang diperoleh dari beberapa macam tanaman. Nama sediaan, kecuali vaksin dan bahan diagnostika, ditulis dengan menyebutkan nama zat aktif diikuti nama bentuk sediaan.

Sediaan berupa larutan dalam air, nama pelarutnya tidak perlu disebutkan, kecuali larutan iodium dalam air. Sediaan berupa larutan yang menggunakan pelarut lain, nama pelarutnya harus disebutkan.

### 4. Persyaratan

Semua paparan yang tertera dalam monografi, kecuali yang akan disebutkan dibawah ini, merupakan persyaratan bagi zat, bahan baku obat atau sediaan yang bersangkutan. Suatu zat, bahan baku obat hewan atau sediaan tidak dapat dinyatakan bermutu Farmakope Obat Hewan Indonesia jika tidak memenuhi persyaratan tersebut.

Bobot molekul, rumus kimia dan kelarutan yang tercantum dalam masing-masing monografi, hanya bersifat sebagai penjelasan dan tidak termasuk persyaratan, kecuali dinyatakan khusus dalam monografi yang bersangkutan.

Persyaratan yang tertera dalam Farmakope Obat Hewan Indonesia berlaku untuk bahan yang akan digunakan untuk tujuan pembuatan.

### 5. Rumus kimia

Susunan kimia suatu zat resmi yang telah diketahui atau telah diterima secara umum, rumus molekul dan bobot molekulnya dicantumkan pada awal monografi. Rumus bangun zat kimia organik yang telah diketahui atau telah diterima secara umum juga dicantumkan.

### 6. Bobot atom dan bobot molekul

Bobot atom yang digunakan adalah bobot atom yang tertera dalam Daftar Bobot Atom Internasional yang telah disahkan oleh The International Union of Pure, and Applied Chemistry 1967. Bobot molekul ditetapkan dengan pembulatan 2 angka dibelakang koma.

### 7. Kelarutan

Untuk menyatakan kelarutan zat kimia, istilah kelarutan dalam pengertian umum kadang-kadang perlu digunakan, tanpa mengindahkan perubahan perubahan kimia yang mungkin terjadi pada pelarutan tersebut. Pernyataan kelarutan zat dalam bagian tertentu pelarut adalah kelarutan pada suhu 20°C dan kecuali dinyatakan lain menunjukkan bahwa satu bagian bobot zat padat atau satu bagian volume zat cair larut dalam bagian volume tertentu pelarut. Pernyataan kelarutan yang tidak disertai angka adalah kelarutan pada suhu kamar.

Zat resmi, jika dilarutkan, boleh menunjukkan sedikit kotoran mekanik seperti bagian kertas saring, serat atau butir butir debu, kecuali jika hal itu khusus dinyatakan tidak diperkenankan dalam monografi yang bersangkutan. Jika kelarutan suatu zat resmi tidak diketahui dengan tepat, kelarutannya dapat ditunjukkan dengan istilah kelarutan berikut:

Istilah kelarutan adalah jumlah bagian pelarut yang diperlukan untuk melarutkan 1 bagian zat yang dilarutkan.

Sangat mudah larut	< dari 1
Mudah larut	1 – 10
Larut	10 – 30
Agak sukar larut	30 – 100
Sukar larut	100 – 1.000
Sangat sukar larut	1.000 – 10.000
Praktis tidak larut	> 10.000

### 8. Cemaran mikroba

Sediaan farmasetik bentuk injeksi dan infus tidak boleh mengandung cemaran mikroba.

### 9. Simplisia nabati

Simplisia nabati harus bebas dari serangga, fragmen serta kotoran hewan; bau dan warnanya tidak boleh menyimpang; tidak boleh mengandung lendir dan cendawan atau menunjukkan tanda tanda pengotoran lain, tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun atau berbahaya. Jika dalam beberapa hal khusus

ada sedikit penyimpangan dari beberapa ketentuan mengenai morfologik dan mikroskopik yang tertera pada farmakope, sedangkan semua syarat lain dipenuhi, maka Simplisia yang bersangkutan dapat dianggap memenuhi syarat farmakope.

Pada penetapan kadar abu sulfat, residu yang larut dalam air, residu yang larut dalam etanol dan residu yang larut dalam eter suatu serbuk simplisia nabati, perhitungan didasarkan pada obat herbal yang belum dikeringkan secara khusus.

#### 10. Zat tambahan

Kecuali dalam monografi dinyatakan lain, zat yang dimaksudkan untuk mempertinggi kegunaan, kestabilan, keawetan dan sebagai zat warna, dapat ditambahkan baik pada sediaan resmi maupun sediaan tidak resmi. Zat tambahan ini, dalam jumlah yang digunakan tidak boleh membahayakan dan harus aman, tidak boleh mengganggu dan atau mengurangi khasiat obat dan tidak boleh mengganggu pemeriksaan dan penetapan kadar. Jika terjadi gangguan pemeriksaan atau penetapan kadar, harus ada cara lain yang mempunyai ketelitian, ketepatan dan selektifitas yang setidak-tidaknya sama dengan pemeriksaan dan penetapan kadar resmi.

#### 11. Air

Kecuali disertai penjelasan lain yang dimaksud dengan air ialah air suling atau air demineralisasi.

#### 12. Penafsiran angka

Penafsiran angka yang tertera dalam Farmakope Obat Hewan Indonesia, tergantung dari tingkat ketelitian yang dikehendaki.

Bilangan yang tidak merupakan batasan mempunyai ketelitian 0,5 ke bawah dan ke atas nilai satuan angka terakhir bilangan yang bersangkutan misalnya: bilangan 10,0 mempunyai nilai antara 9,95 sampai 10,05.

Bilangan yang merupakan batasan mempunyai ketelitian sampai persepuluhan satuan angka terakhir bilangan yang bersangkutan. Misalnya pernyataan tidak kurang dari 99,5% dan tidak lebih dari 100,5% pengertiannya adalah tidak kurang dari 99,50% dan tidak lebih dari 100,50%.

#### 13. Logaritma

Logaritma yang digunakan adalah logaritma dengan bilangan pokok 10.

#### 14. Suhu

Suhu dinyatakan dalam derajat Celcius.

Suhu kamar adalah suhu antara 15°C sampai 30°C

#### 15. Persen (%)

Persen (%) dinyatakan dengan salah satu dari empat cara berikut:

- % b/b (persen bobot per bobot), menyatakan jumlah g zat dalam 100 g bahan atau hasil akhir.
- % b/v (persen bobot per volume), menyatakan jumlah g zat dalam 100 ml bahan atau hasil akhir.
- % v/v (persen volume per volume), menyatakan jumlah ml zat dalam 100 ml bahan atau hasil akhir.

- % v/b (persen volume per bobot), menyatakan jumlah ml zat dalam 100 g bahan atau hasil akhir.

#### 16. Bagian

Kecuali dinyatakan lain, yang dimaksud dengan bagian adalah bagian bobot.

#### 17. Bobot tetap dan bobot yang diabaikan

Dengan pernyataan dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan dimaksudkan bahwa perhitungan didasarkan pada zat yang telah dikeringkan menurut cara penetapan susut pengeringan yang tertera pada monografi yang bersangkutan.

Dengan pernyataan dihitung terhadap zat anhidrat dimaksudkan bahwa perhitungan didasarkan pada kadar zat anhidrat. Kadar zat anhidrat diperoleh dengan memperhitungkan kadar air yang ditetapkan menurut cara penetapan kadar air yang tertera pada monografi yang bersangkutan.

#### 18. Bau dan rasa

Pernyataan bau ditetapkan dengan metode pemeriksaan sebagai berikut: Periksa sampel tidak lebih daripada 25 gram dengan segera setelah kemasan dibuka. Jika ada bau yang tercium sampel dibuang dan setelah 15 menit ambil kembali sampel untuk pemeriksaan ulang. Jika bau masih tercium, sampel tidak memenuhi syarat.

Pernyataan rasa didapatkan hanya pada kasus dimana sifat ini merupakan pedoman yang dapat diterima untuk suatu bahan baku (bahan yang digunakan sebagai rasa utama). Pernyataan rasa ini tidak dapat dinyatakan sebagai persyaratan.

#### 19. Larutan standar, larutan zat uji dan larutan blanko

Pada penetapan kadar atau pada penetapan lainnya untuk pengukuran serapan digunakan larutan standar, larutan zat uji dan larutan blanko yang telah direaksikan dengan pereaksi pereaksi lain, maka yang dimaksud dengan ungkapan larutan standar, larutan zat uji dan larutan blanko pada pengukuran serapan dan perhitungan adalah larutan yang telah direaksikan.

#### 20. Pemeriksaan dan penetapan kadar

Metode pemeriksaan dan penetapan kadar yang terdapat dalam Farmakope Obat Hewan Indonesia adalah metode resmi yang dapat memberikan hasil yang sesuai dengan persyaratan yang ditetapkan bagi setiap zat, bahan baku obat atau sediaan farmasetik.

Metode pemeriksaan dan metode penetapan kadar yang lain dapat dilakukan asalkan dapat dijamin dan dibuktikan memberikan hasil yang setidak tidaknya sama dengan metode resmi, baik dalam ketelitian, ketepatan maupun selektifitasnya.

#### 21. Keseragaman kadar

Keseragaman kadar dimaksudkan untuk mengetahui homogenitas sediaan, farmasetik yang mengandung zat berkhasiat dimungkinkan penetapan keseragaman kadarnya.

## 22. Cara menunjukkan zat asing

Pada setiap monografi tidak mungkin diberikan cara pemeriksaan untuk menunjukkan setiap pengotoran ataupun pemalsuan oleh adanya zat asing. Oleh karena itu dapat dipahami, bahwa adanya zat asing yang tidak berasal dari bahan ramuan resmi akan mengakibatkan suatu penyimpangan dari syarat baku.

Pembuktian penyimpangan ini dapat dilakukan dengan suatu metode ilmiah yang telah diakui, baik metode yang tertera dalam Farmakope Obat Hewan Indonesia maupun tidak.

## 23. Penimbangan dan pengukuran

Pengertian lebih kurang dalam pernyataan untuk jumlah bahan yang diperlukan untuk pemeriksaan dan penetapan kadar, berarti bahwa jumlah yang harus ditimbang atau diukur tidak boleh kurang dari 95% dan tidak boleh lebih dari 105% dari jumlah yang tertera. Hasil pemeriksaan atau penetapan kadar didasarkan pada penimbangan atau pengukuran secara seksama sejumlah bahan tersebut. Dengan pernyataan sediaan setara artinya bahwa penimbangan dilakukan sedemikian rupa sehingga batas kesalahan penimbangan tidak lebih dari 0,1% dari jumlah yang ditimbang. Penimbangan seksama dapat juga dinyatakan dengan menambahkan angka 0 dibelakang koma angka terakhir bilangan bersangkutan. Misalnya dengan pernyataan timbang 10,0 mg dimaksudkan bahwa penimbangan harus dilakukan dengan seksama.

Dengan pernyataan ukur seksama dimaksudkan bahwa pengukuran dilakukan dengan memakai pipet atau buret yang memenuhi syarat yang tertera pada bobot dan ukuran. Pengukuran seksama dapat juga dinyatakan dengan perkataan pipet atau dengan menambahkan angka 0 dibelakang koma angka terakhir bilangan yang bersangkutan. Misalnya, dengan pernyataan pipet 10 ml atau ukur 10,0 ml dimaksudkan bahwa pengukuran harus dilakukan dengan seksama.

## 24. Pengeringan dalam hampa udara

Kecuali dinyatakan lain, yang dimaksud dengan pengeringan dalam hampa udara adalah pengeringan pada tekanan tidak lebih dari 5 mm Hg.

## 25. Indikator

Kecuali dinyatakan lain, jumlah larutan percobaan yang digunakan sebagai indikator lebih kurang 0,2 ml atau 3 tetes.

## 26. Wadah

Wadah dan sumbatnya tidak boleh mempengaruhi bahan yang disimpan di dalamnya baik secara kimia maupun secara fisika yang dapat mengakibatkan perubahan potensi, mutu atau kemurniannya. Jika pengaruh itu tidak dapat dihindarkan, maka perubahan yang terjadi tidak boleh sedemikian besar sehingga menyebabkan bahan yang disimpan tidak memenuhi syarat baku.

Wadah tertutup baik harus melindungi isinya terhadap masuknya bahan padat dari luar dan mencegah kehilangan waktu penanganan baik dalam waktu

pembuatan, penyediaan dan peredaran dalam keadaan biasa dan dengan cara biasa.

Wadah tertutup rapat harus melindungi isinya terhadap bahan padat atau lengas dari luar dan mencegah kehilangan, pelapukan, pencairan dan penguapan pada waktu penanganan baik dalam waktu pembuatan, penyediaan dan peredaran dalam keadaan biasa dan dengan cara biasa.

Jika untuk suatu dosis tunggal disyaratkan wadah tertutup rapat, dapat diganti dengan wadah tertutup kedap.

Wadah tertutup kedap harus dapat mencegah menembusnya udara atau gas pada waktu penanganan baik dalam waktu pembuatan, penyediaan dan peredaran dalam keadaan biasa dan dengan cara biasa.

## 27. Penyimpanan

Cara penyimpanan. Semua zat, bahan baku obat dan sediaan farmasetik harus disimpan sedemikian rupa sehingga perubahan karena cahaya atau kelembaban atau suhu, sejauh mungkin dihindarkan.

Bahan baku obat yang mudah menguap atau terurai dan bahan obat yang mengandung bagian yang mudah menguap atau terurai, harus disimpan dalam wadah tertutup rapat.

Bahan baku obat yang mudah menyerap air harus disimpan dalam wadah tertutup rapat yang berisi kapur tohor.

Bahan baku obat yang dapat menyerap gas karbon-dioksida harus disimpan dengan pertolongan kapur tohor.

Salep harus disimpan dalam wadah yang terlindung dari cahaya, pada suhu yang sesuai dengan spesifikasi obat tersebut.

## 28. Khasiat dan penggunaan

Khasiat dan penggunaan yang tercantum dalam masing masing monografi merupakan petunjuk mengenai efek utama farmakologik dan penggunaan utama untuk pengobatan dan tidak berarti bahwa obat atau sediaan yang bersangkutan tidak mempunyai khasiat dan penggunaan lain.

## 29. Penandaan

Penandaan adalah pernyataan tertulis mengenai zat, bahan baku atau sediaan obat hewan. Kecuali dinyatakan lain dalam monografi dan kecuali untuk obat hewan yang diserahkan atas resep dokter hewan, penandaan pada etiket, brosur dan wadah sesuai dengan peraturan perundangan yang berlaku.

## 30. Kadaluwarsa

Masa kadaluwarsa dimaksudkan bahwa sampai dengan waktu yang dimaksud, mutu dan kemurnian obat dijamin masih tetap memenuhi syarat baku. Masa kadaluwarsa dinyatakan dalam bulan dan tahun.

## 31. Timbangan Obat

Timbangan obat ada 3 jenis, yaitu timbangan obat gram kasar, timbangan obat gram halus, dan timbangan

obat miligram. Timbangan obat gram kasar adalah timbangan yang mempunyai daya beban antara 250 g dan 1000 g dengan kepekaan 200 mg. Timbangan obat gram halus adalah timbangan yang mempunyai daya beban antara 100 g dan 250 g dengan kepekaan 50 mg. Timbangan obat miligram adalah timbangan yang mempunyai daya beban antara 10 g dan 50 g dengan kepekaan 5 mg.

### 32. Penetes baku

Penetes baku adalah suatu penetes yang pada suhu 20°C memberikan tetesan air suling yang bobotnya antara 47,5 mg dan 52,5 mg.

### 33. Volume sendok

Volume sendok disesuaikan dengan kebutuhan dosis sesuai jenis hewan.

### 34. Penggunaan bahan pengawet

Bahan pengawet yang digunakan harus yang sesuai dengan keperluan menurut jenis sediaan obat hewan. Jenis bahan pengawet dan konsentrasinya harus tertera pada etiket.

### 35. Identifikasi

Identifikasi sediaan farmasetik dilakukan sesuai dengan metode yang ditetapkan dalam farmakope ini. Dapat dilakukan pengujian serapan Inframerah terhadap residu dari sediaan farmasetik. Khusus untuk sediaan farmasetik dan bahan tambahan jika menggunakan metode serapan Inframerah dilakukan terhadap residu dari sediaan tertentu untuk memenuhi syarat pernyataan spektrum serapan maksimum dan intensitas relatif terhadap zat standar.

### 36. Penangas air

Kecuali dinyatakan lain, yang di maksud dengan penangas air adalah penangas berisi air mendidih.

### 37. Obat baru

Obat hewan baru adalah obat hewan yang mengandung zat berkhasiat baru atau zat berkhasiat lama tetapi indikasinya baru, atau mengandung kombinasi baru dari suatu zat berkhasiat lama atau formulasinya baru termasuk zat tambahannya.

### 38. Zat pewarna

Zat pewarna yang boleh dipergunakan dalam formulasi obat hewan adalah zat pewarna yang diperbolehkan oleh peraturan perundangan yang berlaku.

### 39. Metode sterilisasi

Metode sterilisasi disesuaikan dengan jenis sediaan sehingga menjamin sterilitas dan kualitas sediaan seperti persyaratan pada monografi.

### 40. Pereaksi

Pengujian akan memberikan hasil yang memuaskan seperti ditetapkan monografi, jika pengujian dilakukan menggunakan pereaksi. Pereaksi ini tidak dapat dijadikan persyaratan, jika zat digunakan sebagai obat, kecuali bila dinyatakan lain.

### 41. Obat hewan

Obat hewan adalah obat yang khusus dipakai untuk hewan.

### 42. Sediaan farmasetik

Sediaan meliputi antara lain antibiotik, kemoterapeutik lainnya, hormon, antihistamin, antipiretik, anestetik, vitamin, mineral, obat cacing yang dipakai berdasarkan daya kerja farmakologi.

### 44. Obat herbal

Golongan obat herbal meliputi obat asli Indonesia (dalam negeri) maupun obat asal dari negara lain untuk hewan, yang tidak mengandung zat kimia sintetis dan belum ada data klinis serta tidak termasuk narkotika atau obat keras dan khasiat serta kegunaannya diketahui secara empiris (hasil pengalaman atau percobaan sendiri).

### 45. Produk bioteknologi bidang kesehatan hewan

Produk bioteknologi bidang kesehatan hewan meliputi bahan biologik dan farmasetik yang dihasilkan melalui proses bioteknologi.

### 46. Probiotik

Persyaratan mutu sediaan probiotik dan sediaan yang sejenis akan diatur dalam ketentuan tersendiri.

### 47. Lain-lain

Monografi zat aktif yang tercantum dalam Farmakope Obat Hewan Indonesia ini tidak semuanya diperbolehkan untuk dibuat, disediakan, diedarkan dan dipakai menurut peraturan perundangan yang berlaku di wilayah Republik Indonesia.

### 48. Kepustakaan

Dalam penyusunan Farmakope Obat Hewan Indonesia merujuk pada British (Veterinary) Pharmacopoeia (2007), British Pharmacopoeia (2007), Code of Federal Regulation (1991), European Pharmacopoeia (1980), European Pharmacopoeia (2001), Farmakope Indonesia (1984) dan US Pharmacopoeia (2007).

## **MONOGRAFI UMUM**





## Sediaan untuk Oral

### Definisi

Sediaan cair untuk penggunaan oral umumnya larutan, emulsi atau suspensi yang mengandung satu atau lebih zat aktif dalam pembawa yang sesuai, dapat mengandung zat aktif cair.

Beberapa sediaan untuk penggunaan oral dipersiapkan dengan pengenceran sediaan pekat atau dari serbuk atau granul untuk sediaan cair atau suspensi, untuk tetes atau sirup dengan pembawa yang sesuai.

Pembawa sediaan untuk penggunaan secara oral harus di pilih sesuai dengan karakteristik alami dari zat aktif dan mempunyai karakter organoleptik yang sesuai untuk penggunaan tersebut.

Sediaan larutan oral dapat mengandung pengawet antimikrobia, antioksidan dan pembawa lain seperti larutan dapar, emulsifier, pewangi, pembasah, pelarut, pemanis dan pewarna yang diperbolehkan dan yang sesuai.

Emulsi akan terlihat memisah dan akan segera terdispersi bila dikocok. Suspensi akan menunjukkan endapan yang akan segera terdispersi bila dikocok.

Wadah untuk sediaan larutan oral harus memenuhi persyaratan yang ditetapkan.

Beberapa katagori sediaan dapat dibedakan:

- Larutan, emulsi dan suspensi
- Serbuk dan granul untuk larutan serta suspensi oral
- Tetes oral
- Serbuk untuk oral
- Sirup
- Serbuk dan granulan untuk sirup

### Produksi

Selama pengembangan dari sediaan untuk penggunaan oral, dengan formulasi yang mengandung pengawet antimikrobia, diperlukan uji efikasi yang sesuai untuk memilih pengawet sesuai dengan yang dipersyaratkan.

Selama pengembangan, harus dapat diperlihatkan bahwa isi nominal dapat dikeluarkan dari wadah sediaan dosis tunggal.

Selama pembuatan, pengemasan, distribusi sediaan larutan oral harus dijamin tidak terjadi kontaminasi dan memenuhi uji batas kontaminasi.

Pada proses pembuatan, ukuran partikel harus sesuai, biasanya diperlukan pengayakan.

### Keseragaman unit dosis

Larutan, suspensi, dan emulsi pada wadah dosis tunggal memenuhi uji untuk keseragaman unit dosis atau untuk uji keseragaman isi atau keseragaman bobot, tidak termasuk untuk obat herbal.

### Keseragaman kandungan

Kecuali jika dinyatakan lain harus memenuhi uji keseragaman isi.

### Keseragaman bobot

Sediaan dosis tunggal adalah larutan atau emulsi

memenuhi uji keseragaman bobot dengan simpangan baku tidak lebih dari 10%.

### Dosis dan keseragaman untuk tetes oral

Kecepatan tetesan tidak lebih dari 2 tetes per detik. Simpangan baku untuk 10 sediaan yang sama tidak lebih 15%.

### Keseragaman bobot sediaan multidosis

Memenuhi uji batas keseragaman bobot.

### Penandaan

Harus dinyatakan bahan pengawet antimikrobia.

## Larutan, Emulsi dan Suspensi Oral

### Definisi

Larutan, emulsi dan suspensi untuk oral adalah sediaan dalam wadah dosis-tunggal atau multi-dosis. Pemberiaan dosis menggunakan peralatan yang sesuai. Biasanya menggunakan sendok, cangkir untuk volume 5 ml atau spuit oral.

## Serbuk dan Granul untuk Larutan dan Suspensi Oral

### Definisi

Serbuk dan granul untuk sediaan larutan dan suspensi oral memenuhi persyaratan untuk serbuk oral atau granul.

Mengandung partikel-partikel yang terdispersi atau terdisolusi. Setelah disolusi atau suspensi memenuhi persyaratan untuk larutan atau suspensi oral.

### Keseragaman unit dosis

Serbuk dan granul dosis tunggal memenuhi uji keseragaman unit dosis, uji keseragaman isi dan keseragaman bobot, tidak termasuk untuk obat herbal.

### Keseragaman isi

Serbuk dan granul dosis tunggal mengandung kurang dari 2 mg zat aktif atau 2 persen dari bobot total yang memenuhi uji untuk keseragaman isi dari sediaan dosis tunggal. Jika sediaan mengandung lebih dari satu zat aktif, persyaratan hanya untuk zat aktif yang berhubungan dengan persyaratan di atas.

### Keseragaman bobot

Serbuk dan granul dosis tunggal memenuhi uji untuk keseragaman bobot dari sediaan dosis tunggal. Jika uji keseragaman isi dipersyaratkan untuk semua zat aktif, tidak diperlukan uji keseragaman bobot.

### Penandaan

Harus dinyatakan metode sediaan larutan atau suspensi serta kondisi dan waktu penyimpanan.

## Tetes Oral

### Definisi

Tetes oral adalah larutan, emulsi atau suspensi yang diberikan secara tetes dalam jumlah kecil yang sesuai.

**Penandaan**

Harus dinyatakan dalam jumlah tetes per mililiter atau per gram dari sediaan jika dosis diukur dalam tetes.

**Serbuk Tetes Oral****Definisi**

Serbuk untuk sediaan tetes oral memenuhi persyaratan untuk serbuk oral.

Mengandung bahan-bahan yang terdisolusi atau terdispersi dalam cairan yang dipersyaratkan. Setelah disolusi atau suspensi memenuhi persyaratan untuk tetes oral.

**Keseragaman unit dosis**

Serbuk dosis tunggal untuk tetes oral memenuhi uji keseragaman unit dosis, uji keseragaman isi dan keseragaman bobot, tidak termasuk untuk obat herbal.

**Keseragaman isi**

Serbuk dosis tunggal untuk tetes oral mengandung kurang dari 2 mg zat aktif atau 2 persen dari bobot total yang memenuhi uji keseragaman isi dari sediaan dosis tunggal. Jika sediaan mengandung lebih dari satu zat aktif, persyaratan hanya untuk zat aktif yang berhubungan dengan persyaratan di atas.

**Keseragaman bobot**

Serbuk dosis tunggal untuk tetes oral memenuhi uji keseragaman bobot dari sediaan dosis tunggal, persiapan dosis-tunggal. Jika uji keseragaman isi dipersyaratkan untuk semua zat aktif, tidak diperlukan uji keseragaman bobot.

**Sirup****Definisi**

Sirup adalah sediaan cair dengan karakteristik rasa manis dan konsistensi kental. Mengandung sukrosa dengan konsentrasi tidak kurang dari 45% b/b. Rasa manis diperoleh dengan menggunakan poliol atau bahan pemanis. Sirup umumnya beraroma atau mengandung bahan pewarna.

Pemberian dosis dari wadah multi dosis menggunakan peralatan untuk mengukur volume, biasanya menggunakan sendok atau cangkir untuk volume 5 ml atau bentuk lain.

**Penandaan**

Harus dinyatakan nama dan konsentrasi dari poliol atau bahan pemanis.

**Serbuk dan Granul untuk Sirup****Definisi**

Serbuk dan granul untuk sediaan sirup biasanya mengacu pada monografi serbuk oral atau granul. Sediaan ini biasanya mengandung bahan tambahan untuk menambah disolusi. Setelah disolusi, sediaan ini memenuhi persyaratan untuk sirup.

**Keseragaman unit dosis**

Serbuk, dan granul untuk sediaan sirup pada wadah dosis tunggal memenuhi uji untuk keseragaman unit dosis atau untuk uji keseragaman isi atau keseragaman berat, tidak termasuk untuk obat herbal.

**Keseragaman isi**

Serbuk dan granul untuk sirup dosis tunggal mengandung kurang dari 2 mg zat aktif atau 2 persen dari bobot total yang memenuhi uji untuk keseragaman isi dari sediaan dosis tunggal. Jika sediaan mengandung lebih dari satu zat aktif, persyaratan hanya untuk zat aktif yang berhubungan dengan persyaratan di atas.

**Keseragaman bobot**

Serbuk dan granul untuk sirup dosis tunggal memenuhi uji keseragaman bobot dari sediaan dosis tunggal, persiapan dosis-tunggal. Jika uji keseragaman isi dipersyaratkan untuk semua zat aktif, tidak diperlukan uji keseragaman bobot.

**Sediaan Cair dan Serbuk untuk Pemakaian pada Kulit**

Sediaan cair untuk pemakaian pada kulit sesuai dengan yang tertera pada monografi sediaan cair untuk pemakaian pada kulit.

**Definisi**

Sediaan cair untuk pemakaian pada kulit adalah sediaan cair yang ditujukan untuk pemakaian pada kulit, untuk memperoleh efek lokal atau sistemik. Biasanya dalam bentuk larutan, suspensi atau emulsi dengan satu atau lebih zat aktif dengan pembawa yang sesuai.

Sediaan ini dipersiapkan dengan mengkonsentrasikan dalam sediaan serbuk basah, pasta, larutan atau suspensi, yang digunakan untuk menyiapkan zat aktif dengan cara melarutkan suspensi atau emulsi.

Sediaan ini mengandung pengawet antimikroba yang sesuai, antioksidan dan bahan tambahan lain seperti stabiliser, emulsifier dan pengental.

Kategori umum dari sediaan cair untuk pemakaian pada kulit antara lain:

- Busa untuk kulit
- Larutan pekat
- Sediaan *pour on*
- Shampo
- Sediaan *spot on*
- Semprot
- *Teat dips*
- *Teat spray*
- *Udder washes*

**Larutan Pekat****Definisi**

Larutan pekat adalah sediaan yang mengandung satu atau lebih bahan aktif yang umumnya sediaan ini dipersiapkan dengan mengkonsentrasikan dalam

serbuk basah, pasta, larutan atau suspensi, yang digunakan untuk menyiapkan zat aktif dengan cara melarutkan suspensi atau emulsi.

### Pour-On

#### Definisi

Pour-on adalah sediaan yang mengandung satu atau lebih bahan aktif yang umumnya untuk mencegah dan mengobati infestasi ektoparasit dan endoparasit. Sediaan ini tersedia dalam volume tidak lebih dari 5 ml dengan cara menuangkan.

### Spot-On

#### Definisi

Spot-on adalah sediaan yang mengandung satu atau lebih bahan aktif yang umumnya untuk mencegah dan mengobati infestasi ektoparasit dan endoparasit. Sediaan ini tersedia dalam volume kurang dari 10 ml dengan cara mengoleskan pada sebagian kecil area pada kepala atau punggung dari binatang.

### Spray

#### Definisi

Spray adalah sediaan yang mengandung satu atau lebih bahan aktif yang umumnya digunakan untuk tujuan terapeutik eksternal atau profilaktik. Sediaan ini dalam bentuk aerosol.

### Teat Dips

#### Definisi

Teat dips adalah sediaan yang mengandung satu atau lebih zat aktif desinfektan, yang umumnya dalam bentuk larutan yang membenamkan puting dan jika perlu sebelum pemerahan susu untuk mengurangi populasi mikroorganisma pada permukaan. Sediaan ini biasanya mengandung emolien untuk mencegah hidrasi kulit, memperhalus kulit dan memungkinkan penyembuhan luka.

### Teat Spray

#### Definisi

Teat spray adalah sediaan yang mengandung satu atau lebih zat aktif desinfektan, yang umumnya dalam bentuk aerosol yang digunakan untuk menyemprot puting sebelum dan sesudah pemerahan susu untuk mengurangi populasi mikroorganisma pada permukaan. Sediaan ini biasanya mengandung emolien untuk mencegah hidrasi kulit, memperhalus kulit dan memungkinkan penyembuhan luka.

### Udder-Washes

#### Definisi

Sediaan yang mengandung satu atau lebih zat aktif desinfektan umumnya dalam bentuk larutan yang

digunakan untuk mencuci ambing dan puting untuk membersihkan kotoran dan kontaminasi feces sebelum perlakuan dengan teat dips dan teat spray. Udder-Washes umumnya disiapkan dengan mengencerkan sediaan pekat.

### Serbuk Topikal

#### Definisi

Serbuk topikal adalah serbuk ringan untuk penggunaan topikal, dapat dikemas dalam wadah yang bagian atasnya berlubang halus untuk memudahkan penggunaan pada kulit. Serbuk topikal mengandung bahan padat, ringan, partikel padat dengan ukuran bervariasi, mengandung satu atau lebih zat aktif dengan atau tanpa bahan tambahan dan jika perlu ditambahkan zat pewarna yang sesuai dengan yang dipersyaratkan.

Serbuk topikal tersedia dalam dosis tunggal atau multidosis. Serbuk harus steril khususnya untuk penggunaan luka terbuka lebar atau kulit yang terluka.

Serbuk multidosis untuk pemakaian topikal dikemas dalam wadah yang sesuai.

#### Produksi

Pada pembuatan serbuk topikal, ukuran partikel disesuaikan dengan penggunaannya.

Pada pembuatan, pengemasan, penyimpanan dan distribusi serbuk topikal, harus dijamin tidak terjadi kontaminasi mikrobial.

Serbuk steril topikal dipersiapkan menggunakan bahan dan metode yang dirancang khusus untuk menjamin sterilitas dan mencegah kontaminasi mikroorganisme, sesuai dengan persyaratan.

#### Kehalusan

Jika diperlukan kehalusan serbuk ditentukan menggunakan uji ayakan atau metoda lain yang sesuai.

#### Keseragaman unit dosis

Serbuk topikal dosis tunggal memenuhi persyaratan uji keseragaman unit dosis atau memenuhi uji keseragaman kandungan atau bobot, tidak termasuk untuk sediaan herbal.

#### Keseragaman kandungan

Kecuali dinyatakan lain, pengaturan dosis tunggal dengan zat aktif kurang dari 2 mg atau 2% dari total berat harus memenuhi persyaratan keseragaman kandungan serbuk untuk sediaan dosis tunggal. Jika sediaan lebih dari satu zat aktif, persyaratan harus memenuhi seperti kondisi tersebut diatas.

#### Keseragaman berat

Serbuk topikal dosis tunggal memenuhi uji keseragaman berat untuk sediaan dosis tunggal. Jika uji keseragaman kandungan dipersyaratkan untuk semua zat aktif maka tidak dipersyaratkan uji keseragaman berat.

#### Sterilitas

Jika pada etiket tertera sediaan steril, maka harus memenuhi uji sterilitas.

**Penandaan**

Harus tercantum sediaan untuk pemakaian topikal dan steril.

## Ekstrak

**Definisi**

Ekstrak adalah sediaan dengan bentuk cair (ekstrak cair dan tingtur), setengah-padat (ekstrak kental) atau padat (ekstrak kering), diperoleh dari herbal atau bahan asal hewan yang umumnya dalam keadaan kering.

Ekstrak terstandarisasi ditentukan mulai batas toleransi yang dapat diterima sampai dengan aktivitas terapeutik yang ditunjukkan. Standarisasi dicapai melalui penetapan ekstrak dengan penambahan material yang tidak berpengaruh atau pencampuran beberapa batch ekstrak.

**Produksi**

Ekstrak disiapkan dengan metode yang sesuai, menggunakan etanol atau bahan pelarut lain. Lot yang berbeda dari obat herbal atau bahan asal hewan dicampur sebelum diekstraksi.

Obat herbal atau bahan asal hewan sebelum diekstraksi, diperlakukan inaktivasi enzim, penghilangan lemak dan jaringan yang tidak sesuai obat herbal, bahan asal hewan dan pelarut organik yang digunakan dalam persiapan ekstrak harus memenuhi monografi dalam farmakope.

Untuk ekstrak kental dan kering, pelarut organik dihilangkan dengan penguapan. Hasil daur ulang pelarut dapat digunakan setelah distandarisasi. Air yang digunakan adalah yang sesuai kualitasnya. Kecuali untuk uji endotoksin bakteri, air harus memenuhi persyaratan air murni. Air biasa mungkin dapat digunakan, jika spesifikasinya sesuai dengan bentuk sediaan yang akan diproduksi.

Ekstrak dibuat pekat dengan metode yang sesuai, biasanya dengan pengurangan tekanan, suhu yang tidak menyebabkan kerusakan.

Minyak esensial yang telah dipisahkan, mungkin saja diekstraksi kembali pada tahap tertentu dalam proses produksi.

Zat pembawa yang sesuai dapat ditambahkan pada berbagai tahap produksi untuk meningkatkan kualitas teknologi seperti keseragaman dan konsistensi yang diinginkan.

Stabiliser yang sesuai dan pengawet yang diperbolehkan sesuai peraturan perundangan dapat ditambahkan kedalam sediaan.

**Identifikasi**

Ekstrak diidentifikasi dengan metode yang sesuai.

**Uji**

Lakukan dengan metode yang sesuai untuk: uji mikrobiologi, logam berat, aflatoksin dan residu pestisida.

**Penetapan kadar**

Bila mungkin, lakukan penetapan kadar dengan metode yang sesuai.

**Penandaan**

Dinyatakan :

- Obat herbal atau bahan asal hewan
- Cair atau kental atau kering atau tingtur
- Zat aktif yang diketahui aktivitas terapeutiknya
- Nama, jumlah dan kandungan zat aktif dalam ekstrak
- Perbandingan bahan awal dan ekstrak
- Pelarut dan pelarut yang digunakan untuk ekstraksi
- Ekstrak segar dari obat alami atau bahan asal hewan
- Nama dan jumlah pembawa, stabiliser dan pengawet yang digunakan
- Prosentase sisa kering

## Ekstrak Cair

**Definisi**

Ekstrak cair adalah sediaan cair, yang secara umum merupakan campuran 1 bagian berat atau volume setara dengan 1 bagian obat herbal kering atau bahan asal hewan. Jika diperlukan dapat disesuaikan untuk memenuhi persyaratan.

**Produksi**

Ekstrak cair dipersiapkan dengan penambahan etanol dengan konsentrasi tertentu atau air ke obat herbal atau bahan asal hewan atau dengan melarutkan ekstrak kental atau kering dari obat herbal atau bahan asal hewan dalam air atau etanol dengan jumlah tertentu, jika diperlukan lakukan penyaringan. Dapat terlihat adanya sedikit endapan, tetapi tidak berpengaruh nyata pada sediaan.

**Kerapatan jenis**

Memenuhi batas yang dinyatakan dalam monografi.

**Etanol**

Untuk ekstrak yang mengandung alkohol, lakukan penetapan kadar etanol. Kadar etanol memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam monografi.

**Metanol dan 2-propanol**

Untuk metanol tidak lebih dari 0,05% v/v, untuk 2-propanol tidak lebih 0,05% v/v. Kecuali dinyatakan lain.

**Residu kering**

Memenuhi batas persyaratan yang dinyatakan dalam monografi.

**Penyimpanan**

Dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Tambahkan penandaan kandungan etanol % v/v.

## Tingtur

### Definisi

Tingtur adalah sediaan cair yang umumnya diperoleh dari campuran 1 bagian obat herbal atau bahan asal hewan dengan 5—10 bagian pelarut.

### Produksi

Tingtur dipersiapkan dengan metode maserasi atau perkolasi menggunakan hanya etanol dengan konsentrasi yang tepat untuk ekstraksi obat herbal atau bahan asal hewan atau dengan cara melarutkan ekstrak kental atau kering dengan etanol dengan jumlah yang sesuai.

Tingtur umumnya jernih, sedikit endapan yang tidak berpengaruh nyata pada sediaan.

**Maserasi.** Kecuali dinyatakan lain, kurangi ukuran herbal atau bahan asal hewan yang akan diekstraksi menjadi potongan yang sesuai, campur dengan pelarut, biarkan selama waktu tertentu, pisahkan cairan yang didapat dari endapan. Lakukan beberapa kali.

**Perkolasi.** Kecuali dinyatakan lain, kurangi ukuran herbal atau bahan asal hewan yang akan diekstraksi menjadi potongan yang sesuai, campur dengan pelarut, biarkan selama waktu tertentu, pisahkan cairan yang didapat dari endapan. Lakukan beberapa kali. Pindahkan ke dalam perkolator dan biarkan perkolat mengalir secara perlahan pada suhu kamar dan obat herbal dan bahan asal hewan harus tetap tertutup dengan pelarut.

### Kerapatan jenis

Memenuhi batas yang dinyatakan dalam monografi.

### Etanol

Memenuhi batas yang dinyatakan dalam monografi.

### Metanol dan 2-propanol

Untuk metanol tidak lebih dari 0,05% v/v, untuk 2-propanol tidak lebih 0,05% v/v.

### Residu kering

Memenuhi batas persyaratan yang dinyatakan dalam monografi.

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Perbandingan bahan asal dengan tingtur yang diperoleh. Tambahkan penandaan kandungan etanol % v/v.

## Ekstrak Kental

### Definisi

Ekstrak kental adalah sediaan setengah-padat yang diperoleh dengan penguapan atau penguapan sebagian dari pelarut yang digunakan dalam ekstraksi.

### Residu kering

Memenuhi batas yang dinyatakan dalam monografi.

### Bahan pelarut

Memenuhi batas yang dinyatakan dalam monografi.

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

## Ekstrak Kering

### Definisi

Ekstrak kering adalah sediaan padat yang diperoleh dengan penguapan bahan pelarut yang digunakan dalam produksi. Susut pengeringan ekstrak kering tidak lebih besar dari 5% b/b.

### Air

Memenuhi batas yang dinyatakan dalam monografi.

### Susut pengeringan

Memenuhi batas yang dinyatakan dalam monografi.

### Bahan pelarut

Memenuhi batas yang dinyatakan dalam monografi.

### Penyimpanan

Wadah tertutup dan dilindungi dari cahaya.

## Sediaan Granul

Persyaratan granul yang digunakan untuk sediaan larutan oral atau suspensi oral dijelaskan dalam monografi sediaan larutan oral.

### Definisi

Granul adalah sediaan yang padat, kumpulan agregat partikel kering yang cukup tahan terhadap perlakuan tertentu. Umumnya untuk pemberian oral. Dapat dilarutkan atau didispersikan dalam air atau pelarut sebelum digunakan.

Granul dapat mengandung satu atau lebih zat aktif dengan atau tanpa pembawa, dan jika perlu dapat mengandung pewarna dan aroma yang diperbolehkan.

Granul dapat disediakan untuk pemakain dosis tunggal atau multi-dosis. Setiap dosis dalam sediaan multi-dosis diberikan menggunakan peralatan yang sesuai untuk pengukuran jumlah yang diberikan. Untuk granul dosis-tunggal, setiap dosis dikemas dalam kemasan atau wadah tunggal.

Kemasan atau wadah untuk granul harus memenuhi persyaratan yang diperbolehkan oleh peraturan dan perundangan.

Granul dapat dikategorikan menjadi:

- Granul efervesen
- Granul salut
- Granul modifikasi pelepasan
- Granul tahan asam lambung

### Produksi

Dalam proses pembuatan, pengemasan, penyimpanan

dan distribusi, harus diperlakukan dengan tepat untuk menjamin tidak terjadinya kontaminasi.

### Keseragaman kandungan

Kecuali dinyatakan lain, pengaturan granul dosis tunggal dengan zat aktif kurang dari 2 mg atau 2% dari total berat harus memenuhi persyaratan keseragaman isi granul untuk sediaan dosis tunggal. Jika sediaan lebih dari satu zat aktif, harus memenuhi persyaratan untuk kondisi tersebut.

### Keseragaman berat

Granul dosis tunggal, kecuali granul salut harus memenuhi uji keseragaman berat untuk dosis tunggal. Jika uji keseragaman kandungan dipersyaratkan untuk semua zat aktif, tidak dipersyaratkan uji keseragaman berat.

### Keseragaman berat untuk multi-dosis

Granul harus memenuhi uji keseragaman berat.

### Penyimpanan

Bila isi mengandung zat mudah menguap atau perlu dilindungi, simpan dengan wadah tertutup rapat.

## Granul Efervesen

### Definisi

Granul efervesen adalah granul tidak bersalut yang mengandung asam dan karbonat atau hidrogen karbonat dengan reaksi yang cepat dalam air untuk melepaskan karbon dioksida. Penggunaan dengan cara dilarutkan atau didispersikan dalam air.

### Disintegrasi

Pindahkan satu dosis granul efervesen kedalam gelas piala yang mengandung 200 ml air dengan suhu 15°—25°C; terbentuk gelembung gas dan bila pelepasan gas berhenti, maka telah terjadi disintegrasi granul, larut atau terdispesi. Ulangi proses tersebut 5 kali. Granul efervesen harus terdisintegrasi dalam waktu 5 menit.

### Penyimpanan

Wadah kedap.

## Granul Salut

### Definisi

Granul salut adalah sediaan multi dosis dan mengandung granul yang disalut dengan satu atau lebih lapisan dari campuran berbagai pembawa.

### Produksi

Zat yang digunakan untuk penyalut adalah sediaan cair atau suspensi dalam kondisi pembawa yang mudah untuk diuapkan.

### Disolusi

Uji yang sesuai harus dilakukan untuk mengetahui pelepasan zat aktif seperti uji yang dinyatakan dalam uji disolusi untuk sediaan padat.

## Granul Modifikasi Pelepasan

### Definisi

Granul modifikasi-pelepasan adalah granul salut atau tidak bersalut yang mengandung pembawa khusus atau dipersiapkan dengan prosedur khusus atau keduanya yang dirancang untuk memodifikasi kecepatan dan tempat zat aktif dilepas.

Granul modifikasi-pelepasan termasuk granul dengan pelepasan yang lama dan granul dengan pelepasan lambat.

### Produksi

Uji yang sesuai harus dilakukan untuk mengetahui pelepasan zat aktif.

### Disolusi

Uji yang sesuai harus dilakukan untuk mengetahui pelepasan zat aktif seperti uji yang dinyatakan dalam uji disolusi untuk sediaan padat.

## Granul Tahan Asam Lambung

### Definisi

Granul tahan asam lambung adalah granul pelepasan lambat yang tahan terhadap cairan lambung dan untuk melepaskan zat aktif dalam cairan usus. Kondisi ini dicapai dengan menyalut granul dengan zat tahan asam atau dengan yang sesuai.

### Produksi

Uji yang sesuai harus dilakukan untuk mengetahui pelepasan zat aktif.

### Disolusi

Uji yang sesuai harus dilakukan untuk mendemonstrasikan pelepasan zat aktif seperti uji yang dinyatakan dalam uji disolusi untuk sediaan padat.

## Infus Intramamari

### Definisi

Infus intramamari adalah larutan steril yang diharapkan sampai ke kelenjar susu melalui saluran puting susu untuk pengobatan atau pencegahan infeksi penyakit.

Terdapat dua kategori utama yaitu untuk hewan sedang menyusui dan untuk hewan masa kering/tidak menyusui.

Sediaan intramamari dapat berbentuk larutan, emulsi, suspensi atau sediaan semi solid yang mengandung satu atau lebih zat aktif dalam satu campuran yang sesuai. Sediaan dapat mengandung bahan tambahan seperti stabiliser, emulsifier, pengental yang sesuai.

Suspensi menunjukkan adanya endapan yang segera bercampur dengan bantuan pengocokan.

Emulsi menunjukkan fase terpisah yang dapat bercampur dengan bantuan pengocokan.

Kecuali dinyatakan lain, sediaan intramamari harus

dikemas dalam wadah untuk satu kali penggunaan dalam satu saluran puting susu dari satu hewan. Jika disiapkan dalam wadah multidosis, sediaan harus mengandung bahan pengawet dengan konsentrasi yang tepat, kecuali sediaan itu sendiri telah mempunyai bahan pengawet yang sesuai.

Wadah untuk sediaan intramamari memenuhi persyaratan wadah.

#### **Produksi**

Sediaan intramamari menggunakan formula yang mengandung bahan pengawet antimikroba. Efektivitas dari bahan pengawet yang dipilih dan digunakan harus sesuai dengan persyaratan.

Pada produksi, distribusi dan penyimpanan harus dirancang untuk menjamin tidak terjadi kontaminasi.

Bila sediaan mengandung partikel, harus dilakukan pemeriksaan untuk menjamin ukuran partikel sama.

#### **Keseragaman volume/bobot**

Bobot rata-rata atau volume tidak berbeda oleh lebih dari 10% dari bobot atau volume nominal.

#### **Sterilitas**

Sediaan intramamari memenuhi persyaratan uji sterilitas.

#### **Tempat penyimpanan**

Penyimpanan dalam wadah steril dan kedap.

#### **Label**

Pada label tertera.

- Nama zat aktif.
- Berat atau jumlah International Unit zat aktif.
- Masa laktasi atau masa kering
- Dalam hal sediaan multidosis, nama pengawet dicantumkan

## **Sediaan Intrauterin**

Sediaan intrauterin untuk hewan harus memenuhi persyaratan untuk sediaan intrauterin atau persyaratan berikut.

#### **Definisi**

Sediaan intrauterin untuk hewan merupakan sediaan cair, setengah padat (semisolid) atau sediaan padat, untuk pemberian langsung pada uterus (serviks, caviti atau fundus), memberikan efek lokal.

Mengandung satu atau lebih zat aktif dalam pembawa yang sesuai.

Wadah untuk sediaan intrauterin obat hewan memenuhi persyaratan.

Beberapa kategori dari sediaan intrauterin:

- Tablet intrauterin
- Kapsul intrauterin
- Larutan intrauterin, emulsi dan suspensi, larutan intrauterin pekat

- Tablet untuk larutan intrauterin dan suspensi
- Sediaan semisolid intrauterin
- Intrauterin busa
- Intrauterin batang

#### **Produksi**

Sediaan intrauterin dapat mengandung bahan pengawet antimikroba yang memenuhi persyaratan efektivitas yang ditentukan untuk bahan pengawet serta sesuai dengan peraturan perundangan. Selama produksi, pengemasan, penyimpanan dan distribusi sediaan intrauterin harus dijamin tidak terjadinya kontaminasi.

Sediaan steril intrauterin disiapkan menggunakan bahan dan metoda dirancang untuk menjamin sterilitas dan mencegah kontaminasi.

#### **Keseragaman unit dosis**

Sediaan intrauterin dosis tunggal memenuhi persyaratan uji keseragaman unit dosis dengan uji keseragaman kandungan dan bobot.

#### **Keseragaman kandungan**

Kecuali dinyatakan lain, dosis tunggal sediaan padat dengan kandungan zat aktif tidak kurang dari 2 mg atau kurang dari 2% harus memenuhi uji keseragaman kandungan untuk sediaan dosis tunggal.

#### **Keseragaman bobot**

Sediaan padat intrauterin dosis tunggal memenuhi uji batas keseragaman bobot sediaan dosis tunggal. Bila uji keseragaman kandungan dipersyaratkan untuk semua zat aktif, tidak diperlukan uji keseragaman bobot.

#### **Disolusi**

Lakukan dengan metode yang sesuai untuk memperlihatkan pelepasan zat aktif dari sediaan intrauterin padat dosis tunggal seperti yang diuraikan pada uji disolusi untuk sediaan padat. Bila uji disolusi dipersyaratkan, tidak diperlukan uji disintegrasi.

#### **Sterilitas**

Memenuhi uji batas sterilitas termasuk peralatannya.

#### **Penandaan**

Harus dinyatakan: 1) Pengawet yang digunakan. 2) Bila steril harus diberi tanda steril.

## **Tablet Intrauterin**

#### **Definisi**

Tablet intrauterin adalah sediaan padat dosis tunggal yang mengandung satu atau lebih zat aktif. Pada pemakaian menggunakan peralatan yang sesuai.

#### **Disintegrasi**

Kecuali untuk penggunaan efek lokal yang diperlama, harus memenuhi uji disintegrasi, suppositoria dan pessaris. Kecuali dinyatakan lain, pemeriksaan dilakukan setelah 30 menit.

## Kapsul Intrauterin

### Definisi

Kapsul intrauterin adalah sediaan padat dosis tunggal, secara umum berbentuk kapsul lunak, perbedaan hanya pada ukuran dan bentuk, umumnya berbentuk lonjong, halus dan seragam. Peralatan yang sesuai dapat digunakan untuk pemakaian pada uterus.

### Disintegrasi

Kecuali untuk penggunaan efek lokal yang diperlama, harus memenuhi uji disintegrasi, suppositoria dan pessaris. Kecuali dinyatakan lain, pemeriksaan dilakukan setelah 30 menit.

## Larutan Intrauterin, Suspensi dan Emulsi Peekat untuk Larutan Intrauterin

### Definisi

Larutan intrauterin, suspensi dan emulsi adalah sediaan cair. Larutan peekat untuk larutan intrauterin digunakan setelah diencerkan terlebih dahulu.

Mengandung bahan tambahan, seperti untuk penyesuaian viskositas dan pH serta untuk meningkatkan kelarutan dari zat aktif. Bahan tambahan yang digunakan tidak boleh memberikan pengaruh pada daya kerja obat dan tidak boleh menyebabkan iritasi pada satuan dosis yang diberikan.

Emulsi intrauterin menunjukkan 2 fase yang terpisah tetapi segera terdispersi dengan pengocokan.

Suspensi intrauterin menunjukkan adanya endapan yang segera terdispersi dengan pengocokan membentuk suspensi yang stabil dan homogen.

Sediaan ini dipersiapkan dalam wadah dosis tunggal. Wadah disesuaikan untuk pemakaian sediaan uterus atau dengan peralatan yang sesuai.

### Produksi

Pada produksi suspensi intrauterin, ukuran partikel dikontrol dan disesuaikan untuk penggunaan.

## Tablet untuk Larutan dan Suspensi Intrauterin

### Definisi

Tablet dipersiapkan untuk sediaan larutan intrauterin dan suspensi dari sediaan dosis tunggal yang dilarutkan atau didispersikan dalam air pada saat akan digunakan. Mengandung bahan tambahan untuk mempermudah kelarutan atau pendispersian untuk pencegahan terbentuknya kerak.

Tablet untuk larutan dan suspensi intrauterin memenuhi persyaratan yang tertera pada monografi tablet dan memenuhi persyaratan yang tertera untuk sediaan larutan intrauterin atau yang sesuai.

### Disintegrasi

Tablet untuk larutan dan suspensi intrauterin harus didisintegrasi dalam rentang waktu 3 menit pada suhu

15°—25°C dengan menggunakan uji disintegrasi untuk tablet dan kapsul.

### Penandaan

Harus dinyatakan cara penyiapan larutan dan suspensi intrauterin.

Kondisi dan lama penyimpanan larutan dan suspensi setelah rekonstitusi.

## Sediaan Semisolid Intrauterin

### Definisi

Sediaan semisolid intrauterin adalah sediaan salep, krem atau gel.

Sediaan semisolid intrauterin sesuai dengan persyaratan yang tertera pada monografi sediaan semisolid untuk pemakaian pada kulit.

Sediaan ini dipersiapkan dalam wadah dosis tunggal. Wadah disesuaikan untuk pemakaian sediaan uterus atau dengan peralatan yang sesuai.

## Intrauterin Busa

### Definisi

Intrauterin busa memenuhi persyaratan yang tertera pada monografi obat dalam bentuk busa.

Sediaan ini dipersiapkan dalam wadah multidosis. Wadah disesuaikan untuk pemakaian sediaan uterus atau dengan peralatan yang sesuai.

## Intrauterin Batang

Intrauterin batang memenuhi persyaratan yang tertera pada monografi batang.

Sediaan ini akan berbusa jika bersentuhan dengan cairan fisiologis.

## Sediaan untuk Irigasi

Sediaan untuk irigasi memenuhi persyaratan untuk sediaan irigasi atau persyaratan berikut.

### Definisi

Sediaan untuk irigasi adalah larutan steril, dalam jumlah volume besar yang dipergunakan untuk irigasi rongga tubuh, luka dan permukaan tubuh.

Sediaan irigasi adalah sediaan yang dipersiapkan dengan melarutkan satu atau lebih zat aktif, elektrolit atau zat aktif osmotik dalam air yang sesuai dengan persyaratan air untuk injeksi atau air itu sendiri. Pada kasus terakhir harus diberi tanda sebagai air untuk irigasi. Larutan irigasi biasanya bersifat isotonik dengan darah.

Pada kondisi yang sesuai, sediaan untuk irigasi adalah jernih dan praktis bebas dari partikel.

Sediaan ini dipersiapkan dalam wadah dosis tunggal.



Wadah tertutup rapat yang sesuai dengan wadah sediaan parenteral.

#### **Produksi**

Sediaan irigasi disiapkan menggunakan bahan dan metode yang dirancang untuk menjamin sterilitas dan mencegah kontaminasi.

#### **Sterilitas**

Memenuhi persyaratan uji sterilitas.

#### **Bakteri endotoksin**

Kurang dari 0,5 IU per ml

#### **Pirogenitas**

Memenuhi uji pirogenitas. Injek 10 ml sediaan per kg berat badan kelinci, kecuali dinyatakan lain.

#### **Penandaan**

Harus dinyatakan: 1) Sediaan tidak boleh digunakan untuk injeksi. 2) Digunakan hanya untuk satu kali penggunaan dan sisanya harus dibuang.

## **Kapsul**

Persyaratan monografi ini tidak perlu bagi sediaan kapsul yang bukan untuk pemberian per oral. Persyaratan untuk beberapa sediaan, secara umum mungkin ditemukan dalam monografi umum yang lain, sebagai contoh sediaan rektal dan sediaan vaginal.

#### **Definisi**

Kapsul adalah sediaan padat dengan cangkang keras atau lunak dari berbagai bentuk dan ukuran, biasanya mengandung satu dosis tunggal dari zat aktif dan dipersiapkan untuk pemberian secara oral.

Cangkang kapsul umumnya dibuat dari gelatin atau bahan lain, dengan konsistensi diatur dengan penambahan seperti gliserol atau sorbitol. Bahan tambahan lain seperti filler, bahan pengawet, bahan pemanis, bahan pewarna dan bahan perasa yang mungkin saja ditambahkan.

Isi kapsul bisa berupa padatan (solid), cairan atau konsistensi menyerupai-melekatkan. Terdiri dari satu atau lebih zat aktif dengan atau tanpa bahan tambahan seperti pelarut, diluen, pelicin dan penghancur. Isi kapsul tidak merusak cangkang.

Cangkang akan dihancurkan oleh cairan lambung sehingga isinya dilepaskan.

Beberapa jenis kapsul:

- Kapsul keras
- Kapsul lunak
- Kapsul tahan asam lambung
- Kapsul modifikasi pelepasan

#### **Produksi**

Dalam proses pembuatan, pengemasan, penyimpanan dan distribusi kapsul, harus dijamin tidak terjadi kontaminasi.

#### **Keseragaman kapsul**

Kapsul harus seragam sesuai dengan ukuran dan bobot isi.

#### **Penyimpanan**

Simpan pada suhu tidak lebih dari 30°C.

#### **Penandaan**

Label harus menyebutkan pengawet anti mikroba yang ditambahkan.

## **Kapsul Gelatin Keras**

Kapsul gelatin keras dibuat melalui suatu proses dengan cara mencelup pin kedalam larutan gelatin, kemudian lapisan gelatin dikeringkan, dirapikan dan dilepaskan dari pin tersebut, kemudian bagian induk dan tutup dilekatkan.

Kapsul pati dibuat dengan mencetak campuran pati dan air, kemudian kapsul dikeringkan.

Kapsul kosong disimpan dalam wadah tertutup rapat sampai kapsul diisi. Karena gelatin berasal dari hewan dan pati berasal dari tanaman, maka kapsul ini sebaiknya terlindung dari sumber pencemaran yang potensial atau kontaminasi mikroba.

## **Kapsul Cangkang Keras**

Kapsul cangkang keras biasanya dengan serbuk, butiran atau granul. Butiran gula inert dapat melapisi komposisi bahan aktif atau penyalut yang memberikan profil lepas lambat atau bersifat enterik. Sebagai alternatif, bahan aktif dengan dosis lebih besar dapat dibuat dalam bentuk pelet dan kemudian disalut.

Bahan semi padat atau cairan dapat juga diisi ke dalam kapsul cangkang keras, tetapi bila cairan dimasukkan ke dalam kapsul, salah satu tehnik penutupan harus digunakan untuk mencegah terjadinya kebocoran.

Bagian tutup dan induk cangkang dipisahkan dulu sebelum diisi. Dalam pengisian kapsul pati cangkang keras, bagian tutup dan induk cangkang ditempatkan secara terpisah dan dipasang pada mesin yang berbeda. Mesin yang menggunakan berbagai dosis dapat digunakan untuk mengisi isi ke dalam cangkang keras, tetapi kebanyakan mesin otomatis, membentuk sumbat serbuk dengan cara pengempaan yang kemudian dilepaskan ke dalam bagian induk kapsul kosong. Umumnya bagian pelengkap mesin ini tersedia untuk berbagai jenis pengisi yang lain. Formulasi serbuk sering membutuhkan penambahan zat pengisi, pelubrican dan glidan pada bahan aktif untuk mempermudah proses pengisian kapsul. Formulasi dan metode pengisian, terutama derajat kepadatan dapat mempengaruhi laju pelepasan obat. Penambahan bahan pembasah pada massa serbuk biasa dilakukan jika bahan aktif bersifat hidrofobik. Desintegan dapat ditambahkan ke dalam formulasi serbuk untuk memudahkan deagregasi dan dispersi gumpalan kapsul dalam saluran cerna. Formulasi serbuk sering dapat

dibuat melalui pencampuran kering, sedang formulasi ruah membutuhkan densifikasi dengan teknik rol atau granulasi lain yang sesuai.

Campuran serbuk yang cenderung meleleh dapat dimasukkan kedalam kapsul cangkang keras, dengan adanya adsorben, seperti magnesium karbonat, silikon dioksida koloidal, atau zat lain yang sesuai.

Obat-obat yang berkhasiat keras sering dicampur dengan zat pengencer inert sebelum diisikan ke dalam kapsul. Jika dua macam tak tercampurkan diresepkan bersama, kadang dimungkinkan untuk menempatkan salah satunya di dalam kapsul kecil dan menggabungkannya dengan kapsul lebih besar yang berisi obat kedua. Obat-obat tak tercampurkan dapat juga dipisahkan dengan menempatkan pelet atau tablet bersalut, atau kapsul cangkang lunak yang berisi obat pertama kedalam cangkang kapsul sebelum penambahan obat kedua.

Bahan semi padat tiksotropik dapat dibentuk dengan cara mengubah obat cair atau zat pembawa menjadi bentuk gel dengan menggunakan silika koloidal atau serbuk polietilen glikol berbobot molekul tinggi. Berbagai senyawa malam atau lemak dapat digunakan untuk menyiapkan matriks semi padat dengan peleburan.

## Kapsul Cangkang Lunak

Kapsul cangkang lunak yang dibuat dari gelatin atau bahan lain yang sesuai membutuhkan metode produksi skala besar. Cangkang gelatin lunak sedikit lebih tebal dibanding kapsul cangkang keras dan dapat diplastisasi dengan penambahan senyawa poliol, seperti sorbitol atau gliserin. Perbandingan bahan plastisasi kering terhadap gelatin kering menentukan kekerasan cangkang dan dapat diubah untuk penyesuaian kondisi lingkungan dan juga sifat isi kapsul. Seperti cangkang keras, komposisi cangkang dapat mengandung pigmen atau pewarna yang diijinkan, bahan opak seperti titanium dioksida dan pengawet. Bahan pengharum dapat ditambahkan, sukrosa sampai 5% dapat dimasukkan sebagai pemanis dan untuk menghasilkan cangkang yang dapat dikunyah. Cangkang gelatin lunak umumnya mengandung 6%—13% air. Kapsul cangkang lunak juga dapat diberi kode produk jumlah zat aktif dan lain-lain dengan cara di cetak. Umumnya kapsul cangkang lunak diisi dengan cairan khususnya bahan aktif dilarutkan atau disuspensikan dalam bahan pembawa cair. Dahulu digunakan bahan pembawa minyak seperti minyak nabati tetapi sekarang ini lebih umum digunakan bahan pembawa cair bukan air yang dapat bercampur dengan air seperti polietilen glikol berbobot molekul lebih rendah karena mempunyai lebih sedikit masalah ketersediaan hayati.

Kapsul cangkang lunak tersedia dalam berbagai bentuk dan ukuran, dan dibentuk, diisi serta diletakkan dengan menggunakan mesin yang sama, khususnya dengan proses berputar, meskipun dapat juga digunakan suatu proses lempeng atau proses turunan. Kapsul cangkang lunak dapat juga diproduksi melalui proses gelembung yang membentuk kapsul sferik tanpa lekukan.

Kapsul berisi cairan dari setiap jenis kapsul, melibatkan teknologi formulasi yang sama dan memberikan keuntungan serta keterbatasan yang sama. Contoh, kedua jenis kapsul dapat memberikan keuntungan dibandingkan kapsul berisi zat kering dan tablet dalam hal keseragaman kandungan dan disolusi obat. Homogenitas yang lebih besar mungkin terjadi dalam sistem cair dan cairan dapat di ukur lebih tepat. Disolusi obat mungkin lebih baik karena obat sudah dalam larutan atau paling tidak tersuspensi dalam bahan pembawa hidrofilik. Namun, kontak antara cangkang lunak atau keras dengan isi zat cair lebih besar dibandingkan dengan kapsul berisi serbuk kering, dan dapat meningkatkan kemungkinan terjadinya interaksi yang tidak diinginkan. Sifat cairan isi kapsul menyebabkan masalah teknologi yang berbeda dibandingkan kapsul isi zat kering dalam hal uji waktu hancur dan disolusi. Ditinjau dari segi formulasi, teknologi, dan biofarmasi kapsul berisi cairan dari jenis kapsul apa saja lebih seragam dibandingkan kapsul berisi serbuk kering dari jenis cangkang yang sama. Oleh karena itu untuk penetapan standar resmi dan metode lebih didasarkan pada pertimbangan sifat isi kapsul dibandingkan cangkangnya.

## Obat Herbal

### Definisi

Obat herbal adalah biasanya berbentuk fragmen utuh atau potongan, terbagi-bagi, merupakan bagian dari tanaman, alga, jamur, jenis lumut yang diproses dengan cara yang sesuai, biasanya kering atau kadang-kadang segar. Bagian tertentu dari tanaman dengan pengolahan khusus juga digunakan sebagai obat herbal.

Obat herbal didefinisikan dengan nama ilmiah tumbuhan sesuai dengan sistem binomial (jenis, spesies, variasi dan famili).

### Produksi

Obat herbal diperoleh dari tanaman yang ditanam atau tanaman liar. Dalam jumlah yang tepat, cara penanaman, cara panen, cara pengeringan, pemecahan menjadi fragmen dan kondisi penyimpanan sangat penting untuk menjamin kualitas obat herbal. Obat herbal sebisa mungkin, bebas dari ketidakmurnian seperti tanah, debu, kotoran dan zat pencemar lain seperti jamur, serangga dan pencemaran lain.

Sediaan ini tidak busuk. Jika pada penanganan dekontaminasi telah digunakan, memudahkan untuk mengetahui bahwa tidak ada sisa residu berbahaya.

Penggunaan etilen oksida dilarang untuk melepaskan gas beracun dari obat herbal.

### Identifikasi

Obat herbal diidentifikasi secara makroskopik dan mikroskopik dan uji lebih lanjut seperti kromatografi lapis tipis.

**Uji zat asing**

Diperlukan bila tertera pada monografi.

**Uji spesifik lain**

Diperlukan untuk obat herbal yang dapat dipalsukan.

Jika diperlukan obat herbal memenuhi uji lain, sebagai contoh, total abu, abu tidak larut dalam asam hidroklorida, ekstrak dan nilai kepahitan.

**Susut pengeringan**

Kecuali jika ditetapkan dalam monografi masing-masing. Uji kadar air diperlukan untuk obat herbal dengan kandungan minyak esensial tinggi.

**Uji lain**

Obat herbal memenuhi persyaratan untuk residu pestisida.

Persyaratan ditentukan dengan mempertimbangkan sifat alami tanaman, jika perlu sediaan dimana tanaman mungkin saja digunakan, dan dimana tersedia pengetahuan dari catatan lengkap dari penanganan tanaman. Jumlah dari residu pestisida mungkin saja ditentukan oleh metoda yang ditambahkan pada metoda umum.

Resiko kontaminasi dari obat herbal oleh logam berat harus dipertimbangkan. Jika monografi tidak menentukan batas untuk logam berat atau unsur-unsur spesifik beberapa batas diperlukan jika dibenarkan.

Harus memenuhi uji batas kontaminasi kuman.

Jika perlu lakukan uji batas untuk aflatoksin. Batas aflatoksin mungkin saja ditetapkan.

**Penyimpanan**

Dilindungi dari cahaya.

**Teh Herbal****Definisi**

Teh herbal, secara eksklusif mengandung satu atau lebih obat herbal untuk sediaan larutan oral dengan cara dekoksi, infusi atau maserasi. Sediaan segera dipersiapkan sebelum digunakan.

Teh herbal umumnya dalam bentuk bulk atau dalam sachet. Teh herbal harus memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam monografi obat herbal.

Rekomendasi untuk kualitas mikrobiologi teh herbal harus mempertimbangkan metode persiapan yang menggunakan air mendidih atau air biasa.

**Identifikasi**

Identifikasi obat herbal dalam teh herbal diperiksa secara botanikal.

**Uji**

Proporsi obat herbal dalam teh herbal dilakukan dengan metode tertentu yang sesuai.

**Keseragaman berat**

Tentukan rata-rata berat dari 20 unit dengan menimbang seluruh wadah, buka tanpa kehilangan

fragmen, kosongkan isinya. Timbang berat wadah kosong dan hitung berat isi.

Kecuali dinyatakan lain, simpangan baku berat seperti dalam tabel dibawah ini:

Berat rata-rata (g)	Simpangan baku (%)
Kurang dari 1,5 g	15%
1,5—2,0 g	10%
Lebih dari 2,0 g	7,5%

**Penyimpanan**

Dilindungi dari cahaya.

**Sediaan Parenteral**

Persyaratan dari monografi ini tidak diperlukan untuk produk yang diperoleh dari darah manusia, sediaan imunologi, atau sediaan radiofarmaka.

**Definisi**

Sediaan parenteral adalah sediaan steril yang digunakan untuk injeksi, infus atau implan pada hewan.

Sediaan parenteral biasanya mengandung bahan tambahan, seperti untuk membuat larutan isotonik, perlu diatur pH-nya dengan meningkatkan kelarutannya, untuk mencegah terurainya zat aktif atau pengawet, tetapi tidak mempengaruhi efek sediaan pada konsentrasi tertentu atau tidak menyebabkan toksisitas atau tidak menyebabkan iritasi lokal.

Wadah sediaan parenteral dibuat dari bahan yang transparan untuk mempermudah pengamatan terhadap isi, kecuali untuk implan dan kondisi dan hal lain. Wadah memenuhi persyaratan wadah. Tipe kaca yang dianjurkan untuk tiap sediaan umumnya tertera dalam masing – masing monografi. Sediaan parenteral dikemas dalam wadah kaca atau bahan lain seperti wadah plastik atau spuit. Wadah ditutup dengan cara pelebunan atau penutup yang sesuai sehingga dapat mencegah pencemaran atau kehilangan isi. Penutup dapat ditembus oleh jarum suntik dan pada saat penarikan jarum, segera menutup kembali sehingga mencegah pencemaran.

Kategori umum dari sediaan parenteral, antara lain:

- Injeksi
- Infus
- Larutan pekat untuk injeksi atau infus
- Serbuk untuk injeksi atau infus
- Gel untuk injeksi
- Implan

**Produksi**

Pada pengembangan sediaan parenteral, formulasi yang mengandung bahan pengawet yang ditentukan, efektifitas harus di uji terlebih dahulu, menggunakan metode uji yang sesuai.

Sediaan parenteral disiapkan menggunakan bahan atau metode yang dirancang untuk menjamin sterilitas dan mencegah kontaminasi dan pertumbuhan mikroba.

Air yang digunakan untuk sediaan parenteral sesuai dengan air untuk injeksi seperti yang tertera pada monografi air untuk injeksi.

### **Bahan partikulat**

Bila monografi mencantumkan persyaratan bahan partikulat maka semua injeksi volume besar untuk infus dosis tunggal dan injeksi volume kecil, harus memenuhi persyaratan untuk bahan partikulat.

Sediaan yang dikemas dalam wadah injeksi volume besar maupun injeksi volume kecil bila dalam wadah tertera isi 100 ml atau kurang, sediaan memenuhi syarat untuk injeksi volume besar atau infus dosis tunggal, bila pada wadah berisi lebih dari 100 ml. Injeksi yang dikemas dan diberi penandaan sebagai larutan irigasi dibebaskan dari bahan partikulat.

### **Sterilitas**

Sediaan parenteral memenuhi syarat untuk uji sterilitas.

### **Penyimpanan**

Wadah tertutup rapat, kedap dan steril.

### **Penandaan**

Pada etiket tertera nama dan konsentrasi dari bahan pengawet, cara pemberian dan bebas dari bakteri endotoksin.

## **Injeksi**

Injeksi adalah larutan steril, emulsi atau suspensi. Sediaan ini disiapkan untuk melarutkan, mengemulsi atau mensuspensikan zat aktif dengan bahan tambahan dalam air atau dalam pelarut lain yang sesuai.

Larutan untuk injeksi mengandung bahan yang sesuai, jernih dan bebas dari partikel.

Emulsi untuk injeksi tidak menunjukkan adanya lapisan yang terpisah.

Suspensi untuk injeksi dapat menunjukkan adanya endapan yang dapat bercampur dengan pengocokan untuk membuat suspensi yang stabil dan sesuai dengan dosis yang harus diberikan.

Injeksi larutan multi dosis mengandung bahan pengawet yang sesuai pada konsentrasi tertentu sehingga dapat meningkatkan daya kerja dari bahan pengawet pada sediaan.

### **Bahan pengawet**

Dapat mengandung bahan pengawet yang sesuai dan diperbolehkan untuk ditambahkan.

### **Produksi**

Pada pengembangan sediaan parenteral, formulasi yang mengandung bahan pengawet yang ditentukan, efektifitas harus di uji terlebih dahulu, menggunakan metode uji yang sesuai.

Dalam farmakope yang dimaksud dengan larutan intravena volume besar adalah injeksi dosis tunggal untuk intravena dan dikemas dalam wadah bertanda volume lebih dari 100 ml. Injeksi volume kecil adalah

injeksi yang dikemas dalam wadah bertanda volume 100 ml atau kurang.

### **Keseragaman unit dosis**

Suspensi untuk injeksi pada wadah dosis tunggal memenuhi uji untuk keseragaman unit dosis atau untuk uji keseragaman isi atau keseragaman bobot, tidak termasuk untuk obat herbal.

### **Keseragaman isi**

Serbuk dan granul untuk suspensi injeksi dosis tunggal mengandung kurang dari 2 mg zat aktif atau 2% dari bobot total memenuhi uji untuk keseragaman isi dari sediaan dosis tunggal. Jika sediaan mengandung lebih dari satu zat aktif, persyaratan hanya untuk zat aktif yang berhubungan dengan persyaratan di atas.

### **Bakteri endotoksin-pirogen**

Uji untuk bakteri endotoksin memenuhi persyaratan untuk uji endotoksin dan uji pirogen. Pada etiket tertera bahwa sediaan bebas dari bakteri endotoksin atau bebas pirogen.

## **Infus**

Infus adalah larutan steril, larutan jernih atau emulsi dengan air. Biasanya dibuat isotonik dengan darah. Pada umumnya infus dibuat dalam volume besar. Infus tidak dapat mengandung bahan pengawet. Larutan untuk infus, harus jernih dan praktis bebas dari partikel.

Emulsi untuk infus tidak menunjukkan adanya lapisan yang terpisah.

### **Produksi**

Pada produksi infus, ukuran partikel dikontrol dan disesuaikan untuk penggunaan.

Infus biasanya disimpan dalam wadah yang sesuai untuk penggunaan dan pemberian.

### **Bakteri endotoksin-pirogen**

Memenuhi persyaratan untuk uji endotoksin dan uji pirogen.

## **Injeksi atau Infus Pekat**

Larutan pekat untuk injeksi atau infus adalah larutan steril yang dilarutkan terlebih dahulu untuk pemakaian injeksi atau infus. Sediaan ini dilarutkan sampai volume tertentu dengan pembawa yang sesuai sebelum digunakan. Setelah dilarutkan, sediaan ini memenuhi persyaratan untuk injeksi atau infus.

### **Bakteri endotoksin-pirogen**

Memenuhi persyaratan uji pirogen dan uji endotoksi untuk injeksi dan infus, setelah dilarutkan sampai volume tertentu.

## **Serbuk untuk Injeksi atau Infus**

Serbuk untuk injeksi atau infus adalah seragam, zat aktif steril yang di simpan dalam wadah dan pada saat

pengocokan dengan air atau pembawa yang sesuai untuk mencapai volume tertentu dan membentuk larutan yang bebas dari partikel, jernih atau homogen.

Setelah larutan memenuhi persyaratan yang tertera untuk injeksi dan infus.

#### **Produksi**

Keseragaman isi dan bobot dari zat kering untuk sediaan parenteral harus memenuhi persyaratan.

#### **Keseragaman unit dosis**

Serbuk untuk infus dan injeksi pada wadah dosis tunggal memenuhi uji untuk keseragaman unit dosis atau untuk uji keseragaman isi atau keseragaman bobot, tidak termasuk untuk obat herbal.

#### **Keseragaman isi**

Serbuk untuk infus dan injeksi untuk injeksi dosis tunggal mengandung kurang dari 2 mg zat aktif atau 2% dari bobot total memenuhi uji untuk keseragaman isi dari sediaan dosis tunggal. Jika sediaan mengandung lebih dari satu zat aktif, persyaratan hanya untuk zat aktif yang berhubungan.

#### **Keseragaman bobot**

Serbuk untuk infus dan injeksi dosis tunggal memenuhi uji keseragaman bobot dari sediaan dosis tunggal. Jika uji keseragaman isi dipersyaratkan untuk semua zat aktif, tidak diperlukan uji keseragaman bobot.

#### **Bakteri endotoksin-pirogen**

Memenuhi persyaratan untuk injeksi atau infus setelah dilarutkan atau disuspensikan dengan volume yang sesuai.

#### **Penandaan**

Pada label tertera cara penggunaan dari injeksi dan infus.

## **Gel untuk Injeksi**

Gel untuk injeksi adalah gel steril dengan viskositas atau kekentalan yang sesuai untuk modifikasi pelepasan zat aktif pada saat injeksi.

## **Implan**

#### **Definisi**

Implan adalah sediaan dengan masa padat, steril berukuran kecil, berisi obat dengan kemurnian tinggi (dengan atau tanpa bahan tambahan), dibuat dengan cara pengempaan, pencetakan atau cara lain yang sesuai.

Implan dimaksudkan untuk ditanam didalam tubuh (biasanya secara subkutan) dengan tujuan untuk memperoleh pelepasan obat secara berkesinambungan dalam jangka waktu lama.

Implan ditanam dengan bantuan injektor khusus yang sesuai atau dengan sayatan bedah. Bentuk sediaan ini digunakan untuk pemberian hormon, seperti testosteron atau estradiol.

#### **Kemasan**

Implan disiapkan dalam kemasan steril untuk dosis tunggal.

#### **Sterilitas**

Memenuhi uji sterilitas.

#### **Penandaan**

Pada etiket tertera jumlah zat aktif dan steril.

## **Sediaan Semisolid**

#### **Definisi**

Sediaan semisolid adalah sediaan setengah padat ditujukan untuk pemakaian topikal pada kulit atau selaput lendir. Bahan obat harus larut atau terdispersi homogen dalam dasar salep yang sesuai. Sediaan semisolid topikal mengandung satu atau lebih dasar salep dengan satu atau lebih zat aktif yang larut atau terdispersi.

Sesuai dengan komposisinya, dasar salep dapat mempengaruhi aktivitas dari sediaan. Dasar salep mengandung bahan alami atau sintesis dan bisa dalam fase tunggal atau multi fase. Sesuai dengan sifat alami dasar salep, menyebabkan sediaan bersifat hidrofilik atau hidrofobik, mengandung bahan tambahan yang sesuai seperti bahan pengawet antimikroba, antioksidan, stabiliser, emulsifier, pengental dan perubah penetrasi.

Sediaan semi solid topikal yang digunakan untuk luka pada kulit adalah steril.

Wadah sediaan semisolid topikal harus memenuhi persyaratan yang ditetapkan.

Kategori umum untuk sediaan semisolid topikal adalah:

- Salep
- Krim
- Gel
- Pasta

Sesuai dengan bentuknya, salep, krim dan gel secara umum menunjukkan kekentalan-elastis pada sifatnya seperti plastik, pseudoplastik atau tiksotropik tipe laju alir.

Pasta sering memperlihatkan dilatansi.

#### **Produksi**

Pada pengembangan sediaan semisolid, formulasi yang mengandung bahan pengawet antimikroba yang ditentukan sesuai dengan yang dipersyaratkan, efektifitas harus di uji terlebih dahulu, menggunakan metode uji yang sesuai.

Sediaan semisolid disiapkan menggunakan bahan atau metode yang dirancang untuk menjamin sterilitas dan untuk mencegah kontaminasi.

Pada pembuatan sediaan semisolid mengandung partikel yang terdispersi dan dipastikan ukuran partikel disesuaikan dengan penggunaannya.

**Sterilitas**

Memenuhi uji sterilitas.

**Penyimpanan**

Jika mengandung air dan wadah yang mudah menguap simpan dalam wadah kedap udara.

Jika sediaan steril simpan dalam wadah steril dan kedap udara.

**Penandaan**

Pada etiket tertera bahan pengawet anti mikroba dan steril.

**Salep****Definisi**

Salep mengandung fase tunggal dalam bentuk padat atau cair yang dapat terdispersi.

Salep hidrofobik dapat menyerap hanya sejumlah kecil air. Pada pembuatan formulasi dasar topikal menggunakan bahan padat, cairan dan parafin cair, minyak sayur, lemak hewani, gliserida sintetik, lilin dan cairan polialkilsiloksan.

Salep emulsi air dapat menyerap air dalam jumlah besar dan menghasilkan emulsi air dalam minyak, tergantung pada bahan dasar emulsi. Bahan pengemulsi air dalam minyak seperti alkohol wol, ester sorbitan, monogliserida dan lemak alkohol atau bahan pengemulsi minyak dalam air seperti lemak alkohol sulfat, polisorbitat, eter makrogol setostearil atau ester asam lemak dengan makrogol mungkin digunakan untuk tujuan tertentu. Dasar ini menunjukkan salep hidrofobik.

Salep hidrofilik adalah sediaan yang mengandung dasar yang bercampur dengan air. Dasar mengandung campuran cairan dan makrogol padat (polietilen glikol). Sediaan ini mengandung air dalam jumlah besar.

**Krim****Definisi**

Sediaan multifase mengandung fase lipofilik dan fase air.

Krim lifofilik merupakan fase lifofilik yang mengandung pengemulsi air dalam minyak seperti alkohol wol, ester sorbitan dan monogliserida.

Krim hidrofilik merupakan fase air yang mengandung pengemulsi air dalam minyak seperti natrium atau sabun trolamin, lemak alkohol sulfat, polisorbitat dan asam lemak polioksil dan kombinasi ester lemak alkohol, jika perlu dengan pengemulsi minyak dalam air.

**Gel****Definisi**

Gel kadang-kadang disebut jeli, merupakan sistem semi padat terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel

anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar, terpenetrasi oleh suatu cairan.

Gel lifofilik mengandung bahan dasar yang terdiri dari cairan parafin dengan polietilen atau gel minyak lemak dengan silika koloid atau aluminium atau sabun seng.

Gel hidrofilik mengandung bahan dasar yang terdiri dari air, gliserol atau propilen glikol gel yang sesuai dengan bahan untuk membuat gel seperti kanji, selulosa derivatip, karbomer dan magnesium aluminium silikat.

**Pasta****Definisi**

Pasta adalah sediaan semi padat yang mengandung satu atau lebih bahan obat yang dibutuhkan untuk pemakaian topikal.

**Serbuk Oral****Definisi**

Serbuk adalah campuran kering bahan obat atau zat kimia yang dihaluskan, mengandung partikel padat, kering dalam ukuran yang seragam atau bervariasi. Serbuk terdiri dari satu atau lebih zat aktif dengan atau tanpa bahan tambahan, jika perlu ditambahkan bahan pewarna yang sesuai dengan persyaratan yang ditentukan dan bahan penambah rasa yang sesuai.

Pada umumnya sebelum digunakan serbuk dapat dicampur dengan air minum atau bahan pembawa lain yang sesuai. Sediaan serbuk tersedia dalam wadah dosis tunggal atau multidosis.

Wadah untuk sediaan serbuk oral sesuai dengan yang dipersyaratkan.

Serbuk oral multidosis pada umumnya disimpan dalam kertas atau wadah dengan ukuran yang sama atau sesuai.

Serbuk oral dosis tunggal disimpan dalam wadah terpisah, seperti sachet atau vial.

**Produksi**

Pada pembuatan serbuk oral, dipastikan ukuran partikel disesuaikan dengan penggunaannya.

Pada pembuatan, pengemasan, penyimpanan dan distribusi serbuk oral, kualitas harus dirancang untuk menjamin tidak terjadi kontaminasi.

**Keseragaman unit dosis**

Dosis tunggal serbuk oral memenuhi persyaratan uji keseragaman unit dosis atau memenuhi uji keseragaman kandungan atau bobot, tidak termasuk untuk obat herbal.

**Keseragaman isi**

Kecuali dinyatakan lain, pengaturan granul dosis tunggal dengan zat aktif kurang dari 2 mg atau 2 % dari total berat harus memenuhi persyaratan keseragaman isi granul untuk sediaan dosis tunggal. Jika sediaan lebih

dari satu zat aktif, persyaratan harus memenuhi untuk kondisi tersebut.

### **Keseragaman bobot**

Serbuk oral dosis tunggal memenuhi uji keseragaman berat untuk sediaan dosis tunggal. Jika uji keseragaman kandungan dipersyaratkan untuk semua zat aktif, tidak diperlukan uji keseragaman berat.

### **Keseragaman bobot untuk sediaan multi-dosis**

Serbuk oral harus memenuhi uji untuk sediaan multidosis.

### **Penyimpanan**

Wadah kedap udara.

## **Serbuk Effervesen**

### **Definisi**

Serbuk effervesen tersedia dalam bentuk dosis tunggal atau multidosis dan umumnya mengandung bahan asam, hidrogen karbonat yang dapat bereaksi cepat dengan air menghasilkan karbondioksida. Sediaan harus dilarutkan atau didispersikan dalam air sebelum digunakan.

### **Penyimpanan**

Dalam wadah kedap udara.

## **Premiks**

### **Definisi**

Premiks adalah campuran satu atau lebih zat aktif, biasanya dalam pembawa yang sesuai, yang disiapkan untuk pelengkap pakan.

Premiks biasanya dalam bentuk granul, serbuk, setengah-padat atau bentuk cairan. Digunakan sebagai serbuk atau granul, akan bebaskan-mengalir dan homogen. Digunakan dalam bentuk cair berupa suspensi homogen atau larutan.

Kecuali dinyatakan lain oleh peraturan perundangan, harus dinyatakan konsentrasi dari premiks bentuk granul atau serbuk.

### **Produksi**

Zat aktif yang dipergunakan harus memenuhi persyaratan dalam monografi, kecuali dinyatakan lain oleh peraturan dan perundangan.

### **Susut pengeringan**

Tidak lebih dari 15%, gunakan 3,0 g dengan pemanasan pada suhu 100°C—105°C selama 2 jam. Kecuali dinyatakan lain oleh peraturan perundangan.

### **Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Indikasi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

## **Tablet**

### **Definisi**

Tablet adalah sediaan padat mengandung bahan obat dengan atau tanpa tambahan bahan pengisi. Tablet adalah sediaan padat yang mengandung dosis tunggal satu atau lebih zat aktif dengan jumlah partikel yang sama. Tablet digunakan untuk sediaan oral. Beberapa digunakan dengan ditelan utuh, sebagian dikunyah, dihancurkan atau dilarutkan di dalam air, beberapa dipertahankan dalam mulut sampai zat aktif dilepaskan.

Partikel yang mengandung satu atau lebih zat aktif dengan atau tanpa bahan tambahan sebagai bahan pengisi, pengembang, pengikat, pelicin, pembasah atau bahan lain yang sesuai, dengan penambahan bahan pewarna yang sesuai dengan yang dipersyaratkan.

Bentuk tablet biasanya seragam, silinder, rata atau cembung, pada pembuatan ditandai dengan simbol atau tanda-tanda lain.

Wadah untuk tablet harus memenuhi persyaratan yang ditetapkan untuk wadah.

Kategori umum tablet oral, antara lain:

- Tablet tidak bersalut
- Tablet salut
- Tablet effervesen
- Tablet yang dilarutkan
- Tablet dispersibel
- Tablet orodispersibel
- Tablet tahan cairan lambung
- Tablet modifikasi pelepasan

### **Produksi**

Tablet pada umumnya dibuat dengan memampatkan partikel ukuran seragam atau granul. Pada pembuatan tablet digunakan metode yang tepat untuk menghindari patah atau hancurnya tablet pada proses pembuatannya. Hal ini mungkin saja diperlihatkan dengan menguji friabilitas tablet tak bersalut dan resistensi daya hancur tablet. Tablet kunyah disiapkan untuk memudahkan dihancurkan dengan cara mengunyah.

**Bagian tablet.** Ambil 1 atau lebih tablet untuk dibagi menjadi bagian-bagian tablet, sesuai untuk produk kesehatan dan sesuai dengan posologi. Bagian-bagian tablet harus sesuai dengan yang dipersyaratkan, untuk memastikan pasien mendapatkan dosis yang sesuai. Bagian-bagian tablet harus disimpan selama produksi, sesuai dengan keseragaman berat dari masing-masing bagian. Setiap dosis harus memenuhi persyaratan uji berikut. Ambil 30 tablet secara acak, pecahkan dengan tangan, tandai untuk membedakan satu dengan yang lain. Timbang berat setiap tablet sebanyak 30, hitung berat rata-rata. Tablet memenuhi uji jika tidak lebih dari 1 berat tablet kurang dari 85% dan tidak lebih dari 115 % dari berat rata-rata. Tablet tidak memenuhi uji jika lebih dari 1 berat tablet yang luar, atau jika berat 1 tablet adalah kurang dari 75% dan lebih dari 125% dari berat rata-rata. Dalam pembuatan, pengemasan, penyimpanan dan distribusi tablet, ukuran tepat dilakukan untuk memastikan kualitas mikrobiologi,

sesuai yang tertera pada kualitas mikrobiologi pada sediaan farmasetik.

### **Keseragaman unit dosis**

Tablet memenuhi persyaratan uji keseragaman unit dosis atau memenuhi uji keseragaman kandungan atau bobot, tidak termasuk untuk obat herbal dan sediaan obat herbal.

### **Keseragaman kandungan**

Kecuali dinyatakan lain, tablet dengan zat aktif kurang dari 2 mg atau 2% dari total berat harus memenuhi persyaratan keseragaman kandungan untuk sediaan dosis tunggal. Jika sediaan lebih dari satu zat aktif, persyaratan harus memenuhi kondisi tersebut.

Kecuali dinyatakan lain, tablet salut lain dari salut film memenuhi uji keseragaman kandungan dari sediaan dosis tunggal tidak sesuai dengan masing-masing zat aktif.

### **Keseragaman berat**

Tablet tak bersalut, kecuali dinyatakan lain, tablet salut film memenuhi uji keseragaman berat untuk sediaan dosis tunggal. Jika uji keseragaman kandungan dipersyaratkan untuk semua zat aktif, tidak diperlukan uji keseragaman berat.

### **Disolusi**

Uji sesuai dengan pelepasan zat aktif memenuhi persyaratan seperti yang tertera pada uji disolusi untuk sediaan bentuk padat. Bila uji disolusi dipersyaratkan, tidak diperlukan uji disintegrasi.

## **Tablet Tak Bersalut**

### **Definisi**

Tablet tak bersalut termasuk tablet satu lapis, yang dihasilkan dari satu kempa dari partikel dan tablet multi lapis atau lapisan paralel yang diperoleh dengan pengempaan partikel secara berurutan dengan komposisi yang berbeda. Pembawa yang digunakan tidak spesifik, untuk memodifikasi pelepasan zat aktif dari saluran pencernaan.

Tablet tak bersalut sesuai dengan definisi umum dari tablet. Bila dipotong akan terlihat tekstur yang sama (untuk tablet satu lapis) dan tekstur yang berbeda untuk setiap lapis (tablet multi lapis).

### **Disintegrasi**

Tablet tak bersalut memenuhi uji disintegrasi tablet dan kapsul. Gunakan air sebagai cairan. Selama 15 menit.

## **Tablet Salut**

### **Definisi**

Tablet salut adalah tablet yang disalut dengan satu atau lebih lapisan dengan campuran zat aktif yang bervariasi dengan bahan alami atau sintetis, gum, agar-agar, bahan pengisi tidak aktif atau tidak larut, gula, plastisiser, poliol, lilin, bahan pewarna sesuai dengan yang dipersyaratkan, bahan perasa dan bahan aktif.

Zat aktif menggunakan penyalut yang biasanya dalam bentuk larutan atau suspensi pada kondisi pengeringan yang diatur. Pada penyalutan yang sangat tipis, tablet adalah tablet salut film.

### **Produksi**

Memenuhi keseragaman berat atau keseragaman kandungan dari tablet salut lainnya dari tablet salut film.

### **Disintegrasi**

Tablet bersalut memenuhi uji disintegrasi tablet dan kapsul.

## **Tablet Efferveses**

### **Definisi**

Tablet efferveses adalah tablet tak bersalut, umumnya mengandung bahan asam dan karbonat atau hidrogen karbonat, yang dapat bereaksi cepat dengan air menghasilkan karbondioksida. Sediaan harus dilarutkan atau didispersikan dalam air sebelum digunakan.

### **Disintegrasi**

Tablet efferveses memenuhi uji disintegrasi tablet dan kapsul selama 5 menit. Gunakan air sebagai cairan.

## **Tablet yang Dilarutkan**

### **Definisi**

Tablet yang dilarutkan adalah tablet tak bersalut. Sediaan harus dilarutkan dalam air sebelum digunakan. Larutan sedikit opalesen pada penambahan bahan tambahan yang digunakan pada pembuatan tablet.

### **Disintegrasi**

Tablet yang dilarutkan memenuhi uji disintegrasi tablet dan kapsul selama 3 menit. Gunakan air sebagai cairan.

## **Tablet Dispersibel**

### **Definisi**

Tablet dispersibel adalah tablet tak bersalut. Sediaan harus dilarutkan dalam air sebelum digunakan, memberikan campuran yang homogen.

### **Disintegrasi**

Tablet yang dilarutkan memenuhi uji disintegrasi tablet dan kapsul selama 3 menit. Gunakan air sebagai cairan.

### **Kehalusan**

Tempatkan 2 tablet dalam 100 ml air dan aduk sampai terdispersi sempurna. Membentuk dispersi halus, dengan ukuran partikel 710 µm.

## **Tablet Orodispersibel**

### **Definisi**

Tablet orodispersibel adalah tablet tak bersalut, digunakan dengan cara meletakkan tablet dalam mulut, sampai zat aktif terdispersi sebelum ditelan.



**Disintegrasi**

Tablet yang dilarutkan memenuhi uji disintegrasi tablet dan kapsul selama 3 menit. Gunakan air sebagai cairan.

**Tablet Modifikasi Pelepasan****Definisi**

Tablet modifikasi pelepasan adalah tablet salut atau tak bersalut, yang mengandung bahan tambahan khusus atau dipersiapkan dengan metode khusus atau keduanya, yang telah dirancang laju, tempat atau waktu pelepasan zat aktif.

Tablet modifikasi pelepasan termasuk tablet pelepasan diperlama, tablet lepas lambat dan pelepasan berulang.

**Produksi**

Memenuhi uji pelepasan zat aktif.

**Tablet Tahan Cairan Lambung****Definisi**

Tablet tahan cairan lambung adalah tablet pelepasan diperlambat yang ditujukan untuk melewati lambung dan melepaskan zat aktif dalam usus. Pada umumnya sediaan ini dibuat dalam bentuk granul atau partikel yang ditutup dengan lapisan tahan cairan lambung atau dalam kasus tertentu menyalut tablet dengan salut gastroresisten (tablet salut enterik).

Tablet salut gastroresisten memenuhi persyaratan untuk tablet salut.

**Produksi**

Untuk tablet dalam bentuk granul atau partikel disalut dengan salut gastroresisten memenuhi uji pelepasan zat aktif.

**Disintegrasi**

Tablet yang dilarutkan memenuhi uji disintegrasi tablet dan kapsul selama 2 jam. Gunakan air sebagai pembawa asam hidroklorida 0,1 M.

**Disolusi**

Untuk tablet dalam bentuk granul atau partikel disalut dengan salut gastroresisten memenuhi uji pelepasan zat aktif. Sebagai contoh sesuai dengan uji disolusi untuk sediaan bentuk padat.

**Sediaan untuk Mata****Definisi**

Sediaan untuk mata adalah cairan steril, semisolid, sediaan padat yang dipakai untuk bola mata atau konjungtiva atau disisipkan dikantung konjungtiva.

Wadah sediaan untuk mata sesuai dengan yang dipersyaratkan.

Sediaan untuk mata, antara lain tetes mata dan salep mata.

**Produksi**

Pada pengembangan sediaan untuk mata, formulasi yang mengandung bahan pengawet antimikroba ditentukan sesuai dengan yang dipersyaratkan, efektifitas harus di uji terlebih dahulu, menggunakan metode uji yang sesuai.

Sediaan untuk mata disiapkan menggunakan bahan atau metode yang dirancang untuk menjamin sterilitas dan mencegah kontaminasi.

Pada pembuatan sediaan untuk mata mengandung partikel yang terdispersi dan dipastikan ukuran partikel disesuaikan dengan penggunaannya.

**Sterilitas**

Memenuhi uji sterilitas.

**Keseragaman bobot atau volume**

Sediaan cair atau semisolid pada wadah dosis tunggal memenuhi uji keseragaman bobot atau volume.

**Tetes Mata****Definisi**

Tetes mata adalah larutan steril yang mengandung air atau minyak, emulsi atau suspensi yang mengandung satu atau lebih zat aktif yang diteteskan ke mata.

Tetes mata dapat mengandung bahan tambahan contohnya untuk mengatur tonisitas atau viskositas sediaan, pH, meningkatkan kelarutan zat aktif atau menstabilkan sediaan. Bahan ini tidak mempengaruhi efek dari obat atau pada konsentrasi yang digunakan tidak menyebabkan iritasi lokal.

Sediaan cair tersedia dalam wadah multidosis yang mengandung pengawet antimikroba yang sesuai pada konsentrasi yang cukup kecuali jika sediaan tersebut sudah mengandung pengawet antimikroba yang cukup.

Pengawet antimikroba yang digunakan harus kompatibel dengan bahan tambahan lain yang terdapat pada sediaan dan selama tetes mata tersebut digunakan harus tetap efektif.

Jika tetes mata tidak mengandung pengawet antimikroba harus tersedia dalam wadah dosis tunggal. Tetes mata yang digunakan untuk operasi, tidak mengandung pengawet antimikroba dan tersedia dalam wadah dosis tunggal.

Tetes mata adalah larutan, yang pada pemeriksaan visual praktis jernih dan praktis bebas dari partikel.

Suspensi tetes mata menunjukkan adanya endapan yang terdispersi dengan pengocokan membentuk suspensi yang stabil dalam dosis yang sesuai siap untuk diberikan. Sediaan multidosis tersedia dalam wadah yang dapat memberikan tetesan pada saat digunakan. Wadah sediaan mengandung paling banyak sediaan 10 ml, kecuali jika dibenarkan dan diperlukan.

**Ukuran partikel**

Kecuali jika diharuskan dan dibenarkan, suspensi tetes mata sesuai dengan uji berikut: memberikan kuantitas yang stabil dari suspensi dengan mikropipet dalam

kuantitas tepat pada satu objek glass, dan amati di bawah mikroskop dengan area bersesuaian pada 10 µg fasa padat. Untuk alasan praktis, direkomendasikan contoh keseluruhan itu adalah pertama diamati pada perbesaran 50 kali dan partikel lebih besar dari 25 µm adalah diidentifikasi. Partikel lebih besar ini selanjutnya diukur pada yang perbesaran lebih dari 200—500 kali. Untuk setiap 10 µg zat aktif padat tidak lebih dari 20 partikel mempunyai satu dimensi maksimum lebih besar dari 25 µm, dan tidak lebih dari 2 partikel ini mempunyai dimensi maksimum lebih besar dari 50 µm. Tidak satupun dari partikel mempunyai satu dimensi maksimum lebih besar dari 90 µm.

#### **Penandaan**

Pada etiket tertera, untuk wadah multidosis, jangka waktu pemberian setelah wadah dibuka tidak lebih dari 4 minggu, kecuali dibenarkan dan diperlukan.

### **Sediaan Semisolid untuk Mata**

#### **Definisi**

Sediaan semisolid untuk mata adalah salep steril, krim dan gel untuk pemakaian pada konjungtiva. Sediaan ini mengandung satu atau lebih zat aktif yang larut atau tersebar dalam dasar yang sesuai dan homogen. Sediaan salep mata sesuai dengan persyaratna yang tertera pada monografi umum sediaan semisolid untuk pemakaian subkutan. Dasar atau basis semisolid tidak menyebabkan iritasi pada mata.

Sediaan semisolid disimpan dalam wadah kecil, tube steril yang ada tutupnya dan mempunyai berat tidak lebih dari 10 mg. Tube harus tertutup dengan baik untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Sediaan semisolid bisa juga dikemas dalam wadah dosis tunggal yang dirancang khusus.

Wadah atau tube dalam bentuk yang dapat memudahkan pemberian tanpa terkontaminasi.

#### **Ukuran partikel**

Kecuali jika diharuskan dan dibenarkan, sediaan semisolid untuk mata sesuai dengan uji seperti berikut : memberikan kuantitas yang stabil dari suspensi dengan mikropipet dalam kuantitas tepat pada satu objek glass, dan amati di bawah mikroskop bersesuaian area pada 10 µg fasa padat. Untuk alasan praktis, direkomendasikan contoh keseluruhan itu adalah pertama diamati pada perbesaran 50 kali dan partikel lebih besar dari 25 µm adalah diidentifikasi. Partikel lebih besar ini selanjutnya diukur pada perbesaran lebih dari 200—500 kali. Untuk setiap 10 µg zat aktif padat tidak lebih dari 20 partikel mempunyai satu dimensi maksimum lebih besar dari 25 µm, dan tidak lebih dari 2 partikel ini mempunyai dimensi maksimum lebih besar dari 50 µm. Tidak satupun dari partikel mempunyai satu dimensi maksimum lebih besar dari 90 µm.

#### **Penandaan**

Pada etiket tertera, untuk wadah multidosis, jangka waktu pemberian setelah wadah dibuka tidak lebih dari 4 minggu, kecuali dibenarkan dan diperlukan.

# **MONOGRAFI BAKU DAN SEDIAAN**



## Air Murni

H<sub>2</sub>O BM: 18,02 [7732-18-5]

### Definisi

Air untuk sediaan obat yang dipersyaratkan steril dan bebas pirogen, kecuali dinyatakan lain oleh peraturan dan perundangan.

### Air Murni dalam Bulk

#### Produksi

Air murni dalam bulk adalah air yang disiapkan dengan cara penyulingan, penukaran ion atau osmose terbalik atau cara lain yang sesuai dari air yang layak dikonsumsi manusia.

Selama produksi dan penyimpanan, pengukuran harus dilakukan untuk memastikan tidak terjadi kontaminasi. Batas yang diperbolehkan adalah 10 koloni per 100 ml dengan metode membran filter menggunakan medium S, gunakan tidak kurang dari 200 ml air untuk injeksi dalam bulk dan inkubasi 30°—35°C selama 5 hari.

Uji tambahan untuk total karbon organik dengan batas 0,5 mg/l atau alternatifnya uji untuk uji zat teroksidasi yaitu dengan metode berikut: Pada 100 ml tambah 10 ml asam sulfat encer dan 0,1 ml kalium permanganat 0,02 M dan dididihkan selama 5 menit; Larutan tetap berwarna merah muda.

**Konduktivitas.** Tentukan konduktivitas secara *off-line* atau *in-line* dengan konduktometer.

Untuk suhu yang tidak tercantum, lakukan dengan cari interpolasi antara suhu rendah dan tinggi dari tabel berikut ini.

Tabel persyaratan suhu dan konduktivitas

Suhu (°C)	Konduktivitas (S.cm <sup>-1</sup> )
0	2,4
10	3,6
20	4,3
25	5,1
30	5,4
40	6,5
50	7,1
60	8,1
70	9,1
75	9,7
80	9,7
90	9,7
100	10,2

Air murni dalam bulk disimpan dan didistribusikan dalam wadah yang dirancang untuk menjamin kontaminasi mikroba dan kontaminasi zat lain.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Cairan jernih dan tidak berwarna.

**Nitrat.** Tidak lebih dari 0,2 ppm. Pindahkan 5 ml ke dalam tabung yang direndam air es, tambah 0,4 ml kalium

klorida (100 g/l), 0,1 ml difenilamin dan teteskan sambil diaduk 5 ml asam sulfat bebas nitrogen. Pindahkan tabung keatas penangas air dengan suhu 50°C. Setelah 15 menit, warna biru tidak lebih kuat intensitasnya dibanding larutan standar yang dipersiapkan dengan cara yang sama menggunakan campuran 4,5 ml air bebas nitrat dan 0,5 ml standar nitrat (2 ppm NO<sub>3</sub>).

**Aluminium.** Tidak lebih dari 10 ppb, bila digunakan untuk larutan dialisis.

**Larutan uji.** Pada 400 ml air tambah 10 ml dapar asetat pH 6,0 dan 100 ml air suling.

**Larutan standar.** Campur 2 ml aluminium standar (2 ppm Al), 10 ml dapar asetat pH 6,0 dan 98 ml air suling.

**Larutan blanko.** Campur 10 ml dapar asetat pH 6,0 dan 100 ml air suling.

**Logam berat.** Tidak lebih dari 0,1 ppm. Panaskan 200 ml dalam cawan gelas diatas penangas air sampai volume 20 ml. Pada 12 ml larutan memenuhi uji batas. Gunakan 10 standar timbal (1 ppm Pb).

**Endotoksin bakteri.** Tidak lebih 0,25 IU/ml.

#### Penandaan

Dinyatakan bahwa sesuai untuk produksi larutan dialisis.

## Air Murni dalam Wadah

### Definisi

Air murni dalam bulk yang ada dalam wadah dan disimpan dalam kondisi yang dirancang untuk mencegah kontaminasi dan juga bebas dari zat tambahan.

### Karakteristik

**Pemerian.** Cairan jernih dan tidak berwarna. Memenuhi uji untuk air murni dalam bulk.

**Keasaman-kebasaan.** Pada 10 ml (baru dididihkan dan didinginkan), dalam labu gelas borosilikat, tambah 0,05 ml merah metil. Larutan tidak berwarna merah.

Pada 10 ml tambah 0,1 ml bromotimol biru. Larutan tidak berwarna biru.

**Zat teroksidasi.** Pada 100 ml tambah 10 ml asam sulfat encer dan 0,1 ml kalium permanganat 0,02 M dan dididihkan selama 5 menit. Larutan tetap merah muda.

**Klorida.** Pada 10 ml tambah 1 ml asam nitrat encer dan 0,2 ml perak nitrat. Tidak terjadi perubahan dalam waktu 15 menit.

**Sulfat.** Pada 10 ml tambah 0,1 ml asam hidroklorida encer dan 0,1 ml barium klorida. Tidak terjadi perubahan dalam waktu 1 jam.

**Amonium.** Tidak lebih 0,2 ppm. Pada 20 ml tambah 1 ml kalium tetraiodomerkurat. Setelah 5 menit, larutan tidak lebih kuat intensitasnya dibanding dengan larutan standar yang dipersiapkan dengan cara yang sama dengan penambahan 1 ml kalium tetraiodomerkurat kedalam campuran 4 ml standar amonium (1 ppm NH<sub>4</sub>) dan 16 ml air bebas amonium.

**Kalsium dan magnesium.** Pada 100 ml tambah 2 ml dapar amonium klorida pH 10,0, 50 mg mordant hitam dan 0,5 ml natrium edetat 0,01 M. Terbentuk warna biru.

**Residu penguapan.** Tidak lebih dari 0,001%. Evaporasi 100 ml diatas penangas air dan keringkan pada suhu 100°—105°C. Berat residu tidak lebih dari 1 mg.

**Kontaminasi mikroba.** Jumlah bakteri hidup tidak lebih 10<sup>2</sup> koloni per mililiter, dengan metode penyaringan.

#### Penandaan

Dinyatakan bahwa sesuai untuk produksi larutan dialisis.

**Larutan uji.** Pada 400 ml air tambah 10 ml dapar asetat pH 6,0 dan 100 ml air suling.

**Larutan standar.** Campur 2 ml aluminium standar (2 ppm Al), 10 ml dapar asetat pH 6,0 dan 98 ml air suling.

**Larutan blanko.** Campur 10 ml dapar asetat pH 6,0 dan 100 ml air suling.

**Logam berat.** Tidak lebih dari 0,1 ppm. Panaskan 200 ml dalam cawan gelas diatas penangas air sampai volume 20 ml. Pada 12 ml larutan memenuhi uji batas. Gunakan 10 standar timbal (1 ppm Pb).

**Endotoksin bakteri.** Tidak lebih 0,25 IU/ml.

## Air untuk Injeksi

H<sub>2</sub>O BM: 18,02 [7732-18-5]

#### Definisi

Air untuk sediaan obat dengan penggunaan parenteral, bila digunakan sebagai pembawa (air untuk injeksi dalam bulk), untuk melarutkan dan mengencerkan sediaan untuk penggunaan parenteral (air steril untuk injeksi).

### Air untuk Injeksi dalam Bulk

#### Produksi

Air untuk injeksi dalam bulk adalah air murni yang disuling dengan peralatan gelas, atau logam yang sesuai dari air yang layak untuk konsumsi manusia. Hasil penyulingan yang pertama kali keluar harus dibuang dan berikutnya ditampung dalam wadah yang sesuai. Selama produksi dan penyimpanan, pengukuran harus dilakukan untuk memastikan tidak terjadi kontaminasi. Batas yang diperbolehkan 10 koloni/100 ml, gunakan tidak kurang dari 200 ml air untuk injeksi dalam bulk dan inkubasi 30°C selama 5 hari.

**Total karbon organik.** Tidak lebih dari 0,5 mg/l.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Cairan jernih dan tidak berwarna.

**Nitrat.** Tidak lebih dari 0,2 ppm. Pindahkan 5 ml ke dalam tabung yang direndam air es, tambah 0,4 ml kalium klorida (100 g/l), 0,1 ml difenilamin dan teteskan sambil diaduk 5 ml asam sulfat bebas nitrogen. Pindahkan tabung keatas penangas air dengan suhu 50°C. Setelah 15 menit, warna biru tidak lebih kuat intesitasnya dibanding larutan standar yang dipersiapkan dengan cara yang sama menggunakan campuran 4,5 ml air bebas nitrat dan 0,5 ml standar nitrat (2 ppm NO<sub>3</sub>).

**Konduktivitas.** Tentukan konduktivitas secara *off-line* atau *in-line* dengan konduktometer.

**Aluminium.** Tidak lebih dari 10 ppb, bila digunakan untuk larutan dialisis.

Tabel 1. Persyaratan suhu dan konduktivitas

Suhu (°C)	Konduktivitas (S.cm <sup>-1</sup> )
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

Tabel 2. Persyaratan pH dan konduktivitas

pH	Konduktivitas (S.cm <sup>-1</sup> )
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

## Air untuk Injeksi Steril

### Definisi

Air untuk injeksi dalam bulk yang telah didistribusikan kedalam wadah yang sesuai, tutup dan sterilisasi dengan pemanasan dengan kondisi untuk menjamin bahwa produk masih memenuhi uji batas untuk endotoksin bakteri. Air untuk injeksi steril adalah bebas dari zat yang tambahkan.

Periksa dengan kondisi yang sesuai, air harus jernih dan tidak berwarna.

**Keasaman-kebasaan.** Pada 20 ml tambah 0,05 ml merah fenol. Bila larutan kuning, akan menjadi merah dengan penambahan 0,1 ml natrium hidoksida 0,01 M; Bila larutan merah, akan menjadi kuning dengan penambahan 0,15 ml asam hidroklorida 0,01 M.

**Konduktivitas.** Tidak lebih dari  $25 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  untuk wadah dengan ukuran 10 ml atau kurang; Tidak lebih dari  $5 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  untuk wadah dengan ukuran lebih dari 10 ml. Pengukuran pada suhu  $25^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ .

**Zat teroksidasi.** Didihkan 100 ml dengan 10 ml asam sulfat encer. Tambah 0,2 ml kalium permanganat 0,02 M dan didihkan selama 5 menit. Larutan berwarna merah muda.

**Klorida.** Tidak lebih dari 0,5 ppm untuk wadah dengan volume 100 ml atau kurang.

Pada 15 ml. memenuhi uji batas klorida. Siapkan standar menggunakan campuran 1,5 ml standar klorida (5 ppm Cl) dan 13,5 ml air. Periksa secara vertikal ke dasar tabung.

Untuk wadah dengan volume lebih dari 100 ml, lakukan dengan uji berikut: pada 10 ml tambah 1 ml asam nitrat encer dan 0,2 ml perak nitrat. Tidak terjadi perubahan dalam jangka waktu 15 menit.

**Nitrat.** Tidak lebih dari 0,2 ppm. Pindahkan 5 ml kedalam tabung yang direndam air es, tambah 0,4 ml kalium klorida (100 g/l), 0,1 ml difenilamin dan teteskan sambil diaduk 5 ml asam sulfat bebas nitrogen. Pindahkan tabung keatas penangas air dengan suhu  $50^\circ\text{C}$ . Setelah 15 menit, warna biru tidak lebih kuat intensitasnya dibanding larutan standar yang dipersiapkan dengan cara yang sama menggunakan campuran 4,5 ml air bebas nitrat dan 0,5 ml standar nitrat (2 ppm  $\text{NO}_3$ ).

**Sulfat.** Pada 10 ml tambah 0,1 ml asam hidroklorida encer dan 0,1 ml barium klorida. Tidak terjadi perubahan dalam jangka waktu 1 jam.

**Aluminium.** Tidak lebih dari 10 ppb, bila digunakan untuk larutan dialisis.

**Larutan uji.** Pada 400 ml air tambah 10 ml dapar asetat pH 6,0 dan 100 ml air suling.

**Larutan standar.** Campur 2 ml aluminium standar (2 ppm Al), 10 ml dapar asetat pH 6,0 dan 98 ml air suling.

**Larutan blanko.** Campur 10 ml dapar asetat pH 6,0 dan 100 ml air suling.

**Amonium.** Tidak lebih 0,2 ppm. Pada 20 ml tambah 1 ml kalium tetraiodomerkurat. Setelah 5 menit, larutan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibanding dengan larutan standar yang dipersiapkan dengan cara yang sama dengan penambahan 1 ml kalium tetraiodomerkurat kedalam campuran 4 ml standar amonium (1 ppm  $\text{NH}_4$ ) dan 16 ml air bebas amonium.

**Kalsium dan magnesium.** Pada 100 ml tambah 2 ml dapar amonium klorida pH 10,0, 50 mg mordant hitam dan 0,5 ml natrium edetat 0,01 M. Terbentuk warna biru.

**Logam berat.** Tidak lebih dari 0,1 ppm. Panaskan 200 ml dalam cawan gelas diatas penangas air sampai volume 20 ml. Pada 12 ml larutan memenuhi uji batas. Gunakan 10 standar timbal (1 ppm Pb).

**Residu penguapan.** Tidak lebih dari 4 mg (0,004%) untuk wadah dengan volume 10 ml atau kurang; Tidak lebih dari 3 mg (0,003%) untuk wadah dengan volume lebih 10 ml. Evaporasi 100 ml sampai kering diatas penangas air dan keringkan pada suhu  $105^\circ\text{C}$ .

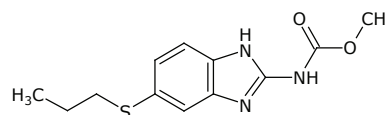
**Partikel.** Memenuhi uji partikel.

**Sterilitas.** Memenuhi uji sterilitas.

**Endotoksin bakteri.** Tidak lebih 0,25 IU/ml.

## Albendazol

*Albendazole*



$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$

BM: 265,3

[54965-21-8]

### Definisi

Albendazol mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% dari metil (5-(propil sulfanil)-1H-benzimidazol-2-il) karbamat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau kekuningan.

**Kelarutan.** Tidak larut dalam air dan alkohol, sangat sukar larut dalam metilen klorida, mudah larut dalam asam format anhidrat.

### Identifikasi

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar albendazol.

**Kejernihan larutan.** Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam campuran 1 volume asam format anhidrat dan 9 volume metilen klorida sampai volume 10 ml. Larutan adalah jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibanding larutan standar BY<sub>6</sub>.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 25,0 mg zat uji dalam 5 ml metanol yang mengandung asam sulfat (1% v/v) dan encerkan dengan fase gerak sampai volume 50 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 10,0 mg zat uji dalam 10 ml metanol yang mengandung asam sulfat (1% v/v) dan encerkan dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 0,5 ml dengan fase gerak sampai volume 50 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan 50,0 mg zat uji dan 50 mg oksibendazol dengan 5 ml metanol yang mengandung asam sulfat (1% v/v) dan encerkan dengan fase gerak sampai volume 100,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5  $\mu\text{m}$ , 25 cm x 4,6 mm.

**Fase gerak.** Campuran 300 volume amonium dihidrogen fosfat (1,67 g/l) dan 700 volume metanol.

**Laju alir.** 0,7 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Injek 20  $\mu\text{l}$  larutan standar (a). Atur sensitivitas, sehingga tinggi puncak utama pada kromatogram adalah 50% dari skala penuh.

Injek 20  $\mu\text{l}$  larutan (b). Uji tidak absah, kecuali jika resolusi antara puncak albendazol dan oksibendazol adalah 3,0.

Injek 20  $\mu\text{l}$  larutan uji, lanjutkan kromatografi 1,5 kali waktu tambat albendazol.

Waktu tambat adalah 0,8 untuk ketidakh murnian A; 0,43 untuk ketidakh murnian B dan C; 0,4 untuk ketidakh murnian D; 0,47 untuk ketidakh murnian E dan 0,57 untuk ketidakh murnian F. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, puncak yang merupakan bagian dari puncak utama, tidak lebih besar dari 1,5 kali area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,75%) dan jumlah area tidak lebih besar dari 3,0 kali area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a) (1,5%). Abaikan batas area puncak yang kurang dari 0,1 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a).

**Kadar air.** Tidak lebih 0,5% b/b, gunakan 1,0 g dengan pemanasan 105°C selama 4 jam.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,2%.Gunakan 1 g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,25 g dalam 3 ml asam format anhidrat dan 40 ml asam asetat glasial. Titrasi dengan asam perklorat 0,1M menggunakan kristal violet sebagai indikator. Setiap ml asam perklorat 0,1M setara 26,53 mg  $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ .

#### Penyimpanan

Ditempat yang tertutup rapat.

#### Khasiat

Obat cacing.

## Albendazol Serbuk Oral

### Definisi

Albendazol serbuk oral mengandung albendazol.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut:

Mengandung albendazol tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera dalam etiket.

### Identifikasi

Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis seperti seperti yang tertera dalam uji identifikasi dalam tiabendazol, akan diperoleh nilai Rf yang sama dengan standar albendazol.

Spektrum serapan ultraviolet dalam larutan metanol menunjukkan panjang gelombang maksimum pada 296 nm dan minimum pada 277 nm.

### Penetapan kadar

Sediaan, setara dengan 100,0 mg albendazol, tambah 3 ml asam asetat glasial dan 40 ml asam asetat anhidrid. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M (larutan 8,5 ml asam perklorat 70%, 500 ml asam asetat glasial, 21 ml asam asetat anhidrid dan tambah asam asetat glasial sampai batas volume 1000 ml) dengan menggunakan kristal violet sebagai indikator. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara 26,53 mg  $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ .

### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Albendazol Suspensi Oral

### Definisi

Albendazol suspensi oral adalah suspensi dalam pembawa, stabiliser dan emulgator yang sesuai.

Suspensi oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam serbuk oral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% albendazol dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis seperti yang tertera dalam uji identifikasi dalam tiabendazol, akan diperoleh nilai Rf yang sama dengan standar albendazol.

Spektrum serapan ultraviolet dalam larutan metanol menunjukkan panjang gelombang maksimum pada 296 nm dan minimum pada 277 nm.

### Penetapan kadar

Sediaan setara dengan 100,0 mg albendazol, tambah 10 ml asam asetat glasial dan 40 ml asam asetat anhidrat.



Titration dengan asam perklorat 0,1M menggunakan kristal violet sebagai indikator. Setiap ml 0,1M asam perklorat setara 26,53 mg  $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ .

### Penyimpanan

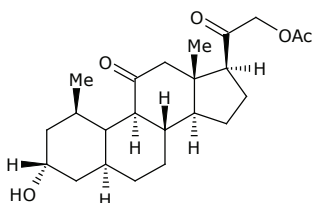
Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Alfadolon Asetat

*Alfadolone Acetate*



$C_{23}H_{34}O_5$

BM: 390,5

[23930-37-2]

### Definisi

Alfadolon asetat adalah 3 $\alpha$ -hidroksi-11,20-diokso-5 $\alpha$ -pregnan-21-il asetat. Mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 103,0% dari  $C_{23}H_{34}O_5$ , dihitung menggunakan standar alfadolon asetat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih sampai krem.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam kloroform; larut dalam etanol (96%). Praktis tidak larut dalam air dan petroleum benzin (titik didih 60°–80°C).

### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar alfadolon asetat.
- Serapan cahaya pada panjang gelombang 230–350 nm dari larutan 0,4% b/v dalam etanol (96%) menunjukkan serapan maksimum hanya pada panjang gelombang 290 nm dengan nilai serapan sekitar 0,7.
- Memenuhi syarat uji untuk identifikasi steroid, menggunakan larutan pencelup II dan fase gerak D.

**Serapan cahaya.** Serapan larutan 0,20% b/v dalam etanol (96%) pada panjang gelombang 235 nm, tidak lebih dari 0,60 (zat kering).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran dari etil asetat dan toluen dengan volume yang sama.

**Larutan (1).** Zat uji 5,0% b/v dalam campuran kloroform dan metanol dengan volume yang sama.

**Larutan (2).** Zat uji 0,15% b/v dalam campuran

kloroform dan metanol dengan volume yang sama.

**Larutan (3).** Zat uji 0,05% b/v dalam campuran kloroform dan metanol dengan volume yang sama.

Totolkan secara terpisah 10  $\mu$ l dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara sampai bahan pelarut menguap, semprot dengan larutan serum (IV) sulfat jenuh dalam asam sulfat (50%) dan panaskan pada suhu 110°C selama 1 jam. Bercak lain selain bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dari larutan (1) tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dari larutan (2) (3%) dan tidak lebih kuat dari bercak yang diperoleh dari larutan (3) (1%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0% pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.

### Penetapan kadar

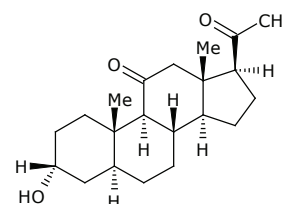
Lakukan dengan metode tetrazolium steroid, biarkan reaksi berlangsung pada suhu 35°C selama 2 jam.

### Khasiat

Obat bius.

## Alfaksalon

*Alfaxalone*



$C_{21}H_{32}O_3$

BM: 332,5

[23930-19-0]

### Definisi

Alfaksalon adalah 3 $\alpha$ -hidroksi-5 $\alpha$ -pregnan-11, 20-dion. Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 103,0% dari  $C_{21}H_{32}O_3$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau seperti krim.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air; mudah larut dalam kloroform; larut dalam etanol (96%); praktis tidak larut dalam petroleum benzin (titik didih 60°–80°C).

### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah, sesuai dengan spektrum serapan standar alfaksalon.
- Memenuhi syarat identitas steroid, menggunakan pelarut II dan fase gerak D.
- Pada penetapan kadar, waktu tambat kromatogram yang didapat dari larutan (2) sama dengan alfaksalon standar dari larutan (1).

**Serapan cahaya.** Larutan 0,20% b/v dalam etanol (96%) pada panjang gelombang 235 nm, tidak lebih dari 0,20, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G.

**Fase gerak.** Campuran etil asetat dan toluen dengan volume yang sama.

**Larutan (1).** Zat uji 5,0% b/v dalam campuran kloroform dan metanol dengan volume yang sama.

**Larutan (2).** Zat uji 0,15% b/v dalam campuran kloroform dan metanol dengan volume yang sama.

**Larutan (3).** Zat uji 0,050% b/v dalam campuran kloroform dan metanol dengan volume yang sama.

Totolkan secara terpisah pada lempeng 10 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara sampai bahan pelarut menguap, semprot dengan larutan serum (IV) sulfat dalam asam sulfat (50%) dan panaskan pada suhu 110°C selama 1 jam.

Bercak lain selain bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dari larutan (1) tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dari larutan (2) (3%) dan tidak lebih kuat dari bercak yang diperoleh dari larutan (3) (1%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1% pada pengeringan dengan suhu 105°C hingga bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Encerkan 25 ml larutan standar alfaksolon (0,2% b/v dalam propan-2-ol); standar alfadolon asetat (0,1% b/v dalam propan-2-ol) dan standar betametason (0,03% b/v dalam propan-2-ol) sampai batas volume 100 ml dengan air bebas karbon dioksida.

**Larutan (2).** Encerkan 25 ml larutan uji (0,2% b/v dalam propan-2-ol) sampai batas volume 100 ml dengan air bebas karbon dioksida.

**Larutan (3).** Encerkan 25 ml larutan uji (0,2% b/v dalam propan-2-ol) dan standar betametason (0,03% b/v dalam propan-2-ol) sampai batas volume 100 ml dengan air bebas karbon dioksida.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 205 nm.

**Kolom.** Spherisorb ODS 1 5 µm atau yang sesuai, dengan ukuran 10 cm × 5 mm, pada suhu 60°C.

**Fase gerak.** Campuran dari 25 bagian volume propan-2-ol dengan 75 bagian volume air bebas karbondioksida.

**Laju alir.** 1 ml/ml.

Waktu tambat alfadolon: sekitar 5 menit.

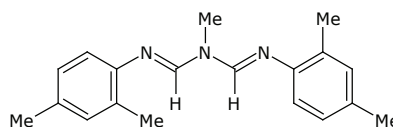
Waktu tambat alfaksolon sekitar 6 menit.

#### Khasiat

Obat bius.

## Amitraz

Amitraz



$C_{19}H_{23}N_3$

BM: 293,4

[33089-61-1]

#### Definisi

Amitraz adalah N-metilbis(2,4-xililiminometil) amina. Mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari  $C_{19}H_{23}N_3$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih kekuningan.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air; terdekomposisi secara perlahan-lahan dalam etanol (96%); mudah larut dalam aseton.

#### Identifikasi

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar amitraz.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan A.** Siapkan larutan yang berisi 0,010% b/v 2,4-dimetilanilin, 0,20% b/v 2',4'-xilidida standar dan 0,20% b/v N,N'-bis(2,4-xilil) formamidin standar dalam metil asetat.

**Larutan B.** Dispersikan 30 mg N-metil-N'-(2,4-xilil) formamidin hidroklorida standar dalam 5 ml metil asetat, tambahkan sekitar 32 mg trietilamin, campur dengan bantuan sonikator selama 2 menit, saring, bilas penyaring dengan sejumlah kecil metil asetat, tambahkan metil asetat sampai batas volume 25 ml (sekitar 0,1% b/v dari N-metil-N'-(2,4-xilil) formamidin).

**Larutan (1).** Zat uji 5,0% b/v dalam metil asetat.

**Larutan (2).** Campuran larutan A dan B dengan volume yang sama.

**Kolom.** Chrompack CP-SIL 8 CB kapiler atau yang sesuai, ukuran 10 m × 0,53 mm dengan suhu awal 125°C, biarkan selama 5 menit pada suhu 125°C, tingkatkan secara linier sampai 270°C dengan peningkatan 5°C per menit dan biarkan pada suhu 270°C selama 15 menit. Suhu pada injektor 230°C dan suhu detektor 300°C

**Laju alir.** 12 ml per menit.

**Injek.** 1 µl dari setiap larutan (1) dan (2).

Kromatogram yang didapat dari larutan (2) adalah puncak larutan standar, dengan urutan berikut: 2,4-dimetilanilin, 2',4'-xilidida, N-metil-N'-(2,4-xilil) formamidin dan N,N'-bis(2,4-xilil) formamidin. Kromatogram yang di dapat dari larutan (1), sesuai dengan 2,4-dimetilanilin, 2',4'-xilidida, N-metil-N'-(2,4-xilil) formamidin dan N,N'-bis(2,4-xilil) formamidin tidak lebih besar dari area puncak yang

didapat dengan larutan (2) (0,1%; 2%, 1% dan 2% berturut-turut) dan area puncak lain selain area puncak kedua tidak lebih besar dari area puncak 2,4-dimetilanilin dari kromatogram yang didapat dari larutan (2) (0,1%).

**Air.** Tidak lebih dari 0,1% b/b. Gunakan 5 g dan campur dengan kloroform dan 2-kloroetanol dengan volume yang sama sebagai pengganti metanol absolut.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,2%.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan standar internal.** Skualen 2% v/v dalam metil asetat (larutan C).

**Larutan (1).** Larutkan 0,15 g zat uji dalam metil asetat sampai volume 30 ml.

**Larutan (2).** Larutkan 0,15 g zat uji dalam 10 ml larutan C dan tambah metil asetat sampai volume 30 ml.

**Larutan (3).** Standar amitraz 1,50% b/v dalam larutan C dan encerkan 1 bagian larutan sampai 3 bagian dengan metil asetat.

**Kolom.** Chrompack CP-Sil 5 CB kapiler atau yang sesuai, ukuran 15 m × 0,53 mm pada suhu 220°C, injektor pada suhu 230°C serta detektor 300°C.

**Kecepatan alir.** 12 ml/menit.

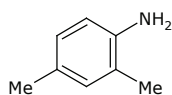
**Injek.** 1 µl dari setiap larutan.

Uji tidak absah, kecuali jika kromatogram yang diperoleh dari larutan (3), mempunyai faktor resolusi antara puncak skualen dan amitraz adalah 3,0.

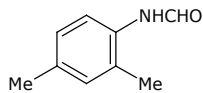
#### Penyimpanan

Amitraz harus disimpan dalam kontainer tertutup baik, dapat berisi paraformaldehid.

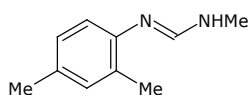
#### Ketidakmurnian



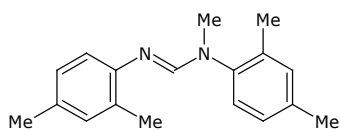
A. 2,4-dimetilanilin (2,4-xilidin).



B. 2,4'-xilidida.



C. N-metil-N'-(2,4-xilil)formamidin.



D. N,N'-bis(2,4-xilil)formamidin.

#### Khasiat

Askarisida.

## Amitraz Pekat Cair

### Definisi

Amitraz pekat (cair) adalah amitraz dalam emulsifier dan stabiliser yang sesuai.

Cairan pekat memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam sediaan cair untuk pemakaian pada kulit dan persyaratan berikut:

Mengandung amitraz,  $C_{19}H_{23}N_3$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

A. Pada uji untuk senyawa sejenis, bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) sesuai dengan yang diperoleh dengan larutan (3).

B. Dalam penetapan kadar, kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) menunjukkan puncak dan waktu tambat yang sesuai dengan puncak dan waktu tambat amitraz yang diperoleh dengan larutan (3).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel HF<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Campuran 2 volume trietilamin, 3 volume etil asetat dan 5 volume sikloheksan.

**Larutan (1).** Sediaan uji yang mengandung amitraz 5,0% b/v dalam toluen.

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan (1) dengan 10 volume toluen.

**Larutan (3).** Standar amitraz 0,5% b/v dalam toluen.

**Larutan (4).** Standar amitraz 0,10% b/v dalam toluen.

**Larutan (5).** 2,4-dimetilanilin 0,005% b/v dalam toluen.

Totolkan 2 µl dari setiap larutan (1), (2), (3), (4) dan 5. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa di bawah cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak lain selain bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (4) (2%). Paparkan lempeng terhadap uap asam hidroklorida. Paparkan lempeng terhadap uap nitrogen dioksida (disiapkan dengan asam nitrat dalam seng) selama 10 menit, hilangkan uap nitrogen-dioksida berlebih dengan udara dan semprot dengan larutan 0,5% b/v N-(1-naftil) etilenediamin dihidroklorida dalam metanol (50%). Bercak kedua yang lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan 2,4-dimetilanilin dan tidak lebih kuat dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (5) (0,1%).

**Air.** Tidak lebih dari 0,15% b/v. Gunakan 5 ml larutan pekat dan campurkan dengan larutan volume yang sama dari kloroform serta 2-kloroetanol sebagai pengganti metanol anhidrat.

### Penetapan kadar

Lakukan penetapan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan standar internal.** Larutan skualen 2% v/v dalam metil asetat (larutan A).

**Larutan (1).** Larutkan dan encerkan sediaan setara dengan 0,15 g amitraz dalam metil asetat sampai batas volume 30 ml.

**Larutan (2).** Larutkan sediaan setara 0,15 g amitraz dalam 10 ml larutan A dan tambahkan metil asetat sampai batas volume 30 ml.

**Larutan (3).** Larutkan 0,15 g dari standar amitraz dalam 10 ml larutan A dan tambahkan metil asetat sampai batas volume 30 ml.

**Kolom.** Chrompack CP-Sil 5 CB kapiler, ukuran 15 m × 0,53 mm atau yang sesuai dengan suhu 220°C, suhu injektor 230°C dan suhu detektor 300°C.

**Laju alir.** 12 ml/menit.

**Injek.** 1 µl.

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3), faktor resolusi antara puncak skualen dan amitraz adalah sedikitnya 3,0. Hitung kadar  $C_{19}H_{23}N_3$  dari kromatogram yang diperoleh dengan menggunakan kadar  $C_{19}H_{23}N_3$  dari standar amitraz.

#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

### Amitraz Pour-On

#### Definisi

Amitraz *pour-on* adalah larutan *pour-on* dengan pembawa dan stabiliser yang sesuai.

*Pour-on* memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam sediaan cair untuk pemakaian pada kulit dan persyaratan berikut.

Mengandung amitraz  $C_{19}H_{23}N_3$  tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110% dari jumlah yang tertera dalam etiket.

#### Identifikasi

Dalam penetapan kadar, kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) menunjukkan puncak dengan waktu tambat yang sesuai dengan amitraz pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3).

**Air.** Tidak lebih dari 0,05% b/v. Gunakan 5 ml larutan uji, campur dengan larutan campuran dengan volume yang sama dari kloroform dan 2-kloroetanol sebagai pengganti metanol anhidrat.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi gas menggunakan:

**Larutan standar internal.** Benzilbutil ftalat 0,1% b/v dalam metil asetat (larutan A).

**Larutan (1).** Encerkan sediaan setara 12,5 mg amitraz dalam metil asetat sampai batas volume 20 ml.

**Larutan (2).** Encerkan sediaan setara 12,5 mg amitraz dalam 10 ml larutan A dan tambahkan metil asetat sampai batas volume 20 ml.

**Larutan (3).** Larutkan 12,5 mg standar amitraz dalam 10 ml larutan A dan tambahkan metil asetat sampai batas volume 20 ml.

**Kolom.** Chrompack CP-Sil 43 CB Kapiler, ukuran 15 m × 0,53 mm atau yang sesuai, suhu 145°C selama 15 menit, tingkatkan secara linear menjadi 195°C dengan peningkatan 16°C/menit dan biarkan selama 30 menit. Suhu injektor 220°C dan detektor 250°C.

**Laju alir.** 13 ml/menit.

**Injek.** 1,5 µl dari setiap larutan.

Penetapan kadar tidak absah kecuali jika, kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3), faktor resolusi antara puncak benzil butil ftalat dan amitraz adalah sedikitnya 3,0. Hitung kadar  $C_{19}H_{23}N_3$  dari kromatogram yang diperoleh dengan menggunakan kadar  $C_{19}H_{23}N_3$  dari standar amitraz.

#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

### Amitraz Peekat Serbuk

#### Definisi

Amitraz peekat serbuk mengandung amitraz yang dicampur dengan zat pembasah, stabiliser dan pembawa lain yang sesuai.

Serbuk peekat memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam sediaan serbuk untuk pemakaian pada kulit dan persyaratan berikut.

Mengandung  $C_{19}H_{23}N_3$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

Pada sediaan setara 0,1 g amitraz, tambah 10 ml aseton dan aduk selama 5 menit, saring dan uapkan sampai kering. Spektrum serapan inframerah dari residu sesuai dengan spektrum serapan standar amitraz.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis seperti yang tertera dalam amitraz peekat cair, dengan larutan uji yang dipersiapkan dengan cara encerkan sediaan dalam toluen sampai mengandung amitraz 5,0% b/v, sentrifus dan gunakan supernatan.

#### Penetapan kadar

Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera dalam amitraz peekat cair dengan menggunakan:

**Larutan (1).** Pada sediaan setara 0,15 g amitraz,

tambah 30 ml metil asetat, aduk, sentrifus dan gunakan supernatan.

**Larutan (2).** Pada sediaan setara 0,15 g amitraz dalam campuran 10 ml larutan A dan 20 ml metil asetat, sentrifus dan gunakan supernatan.

### Penyimpanan

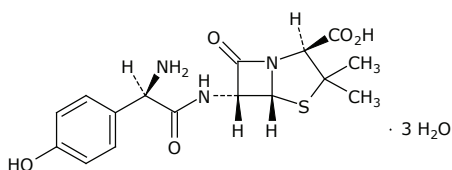
Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Amoksisilin Trihidrat

*Amoxicillin Trihydrate*



$C_{16}H_{19}N_3O_5S \cdot 3H_2O$

BM: 419,45

[61336-70-7]

### Definisi

Amoksisilin trihidrat mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 102,0% asam (2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-amino-2-(4-hidroksifenil)asetil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptan-2-karboksilat asam, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Sukar larut dalam air, sangat sukar larut dalam etanol (96%), praktis tidak larut dalam minyak lemak. Larut dalam asam encer dan alkali hidroksida encer.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A.

Identifikasi kedua: B, C.

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar amoksisilin trihidrat.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silanisasi silika gel HF<sub>254</sub>.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25 mg zat uji dalam larutan natrium hidrogen karbonat sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 25 mg standar amoksisilin trihidrat dalam larutan natrium hidrogen karbonat sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 25 mg standar amoksisilin trihidrat dan standar ampisilin trihidrat dalam larutan natrium hidrogen karbonat sampai volume 10 ml.

**Fase gerak.** Campuran 10 volume aseton dan 90 volume amonium asetat (154 g/l), atur pH 5,0 dengan asam asetat glasial.

Totolkan secara terpisah pada lempeng 1 µl dari setiap larutan. Biarkan lempeng mengering di udara, semprot dengan iodium.

Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, warna dan ukuran dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan dua bercak terpisah.

C. Pada 2 mg, tambah 0,05 ml air, 2 ml asam sulfat-formaldehid dan aduk. Larutan tidak berwarna. Panaskan di dalam penangas air selama 1 menit, terbentuk warna kuning.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 50,0 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutkan 1 g dalam 10 ml asam hidroklorida 1 M, dan secara terpisah larutkan 1 g dalam 3 ml campuran amoniak encer 5 M. Segera setelah disolusi, larutan tidak lebih opalesen dibanding larutan standar.

**pH.** Larutan S pH 3,5—5,5.

**Rotasi jenis.** +290° sampai +315° pada larutan S dan dihitung terhadap zat anhidrat.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Perbandingan fase gerak A:B seperti yang tertera pada pengujian di bawah.

**Injek.** Larutan standar (d).

**Injek.** Larutan uji (b).

Pada kromatogram untuk mencapai puncak amoksisilin dengan perbandingan fase gerak A:B (0:100) selama 25 menit, kemudian dengan fase gerak B selama 15 menit. Puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) tidak lebih kuat dari puncak utama yang diperoleh larutan standar (d) (1%).

**N,N-Dimetilanilin.** Tidak lebih dari 20 ppm.

**Air.** 11,5%—14,5%. Gunakan 0,1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 1,0%.Gunakan 1 g.

### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 30,0 mg zat uji dalam fase gerak A sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan dan encerkan 30,0 mg zat uji dalam fase gerak A sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 30,0 mg standar amoksisilin trihidrat dalam fase gerak A sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 4,0 mg standar sefadroksil dalam fase gerak A sampai batas volume 50,0 ml. Ambil 2,0 ml, tambahkan 5,0 ml larutan standar (a) dan encerkan dalam fase gerak A sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dengan fase gerak A sampai volume 20,0 ml. Encerkan 1,0 ml dengan fase gerak A sampai batas volume 50,0 ml

**Larutan standar (d).** Encerkan 2,0 ml larutan standar (a) dengan fase gerak A sampai volume 20,0 ml. Encerkan 5,0 ml dengan fase gerak A sampai volume 20,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 0,25 m x 4,6 mm.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Larutan dapar pH 5,0.** 250 ml kalium dihidrogen fosfat 0,2 M, dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000,0 ml. Atur pH 5,0 dengan natrium hidroksida encer.

**Fase gerak A.** Campuran 1 volume asetonitril dan 99 volume dapar pH 5,0.

**Fase gerak B.** Campuran 20 volume asetonitril dan 80 volume dapar pH 5,0.

Perbandingan fase gerak A:B (92:8).

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek.** 50  $\mu\text{l}$ .

**Injek.** Larutan standar (a), (b) dan (c).

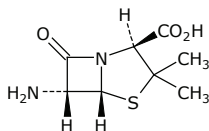
**Injek.** Larutan uji (a) dan standar (b) secara berurutan.

Resolusi antara 2 puncak utama adalah 2. Puncak utama amoksisilin adalah 1,3—2,5. Puncak gangguan adalah 3. Uji tidak absah kecuali jika, standar deviasi untuk area puncak utama tidak lebih dari 1,0%.

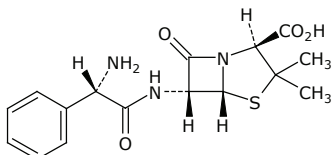
## Penyimpanan

Kedap udara.

## Ketidakhurnian

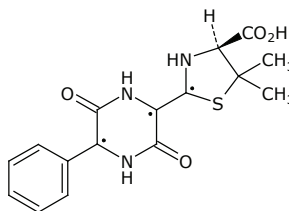


A. Asam (2S,5R,6R)-6-amino-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat (asam 6-aminopenisilinanat).

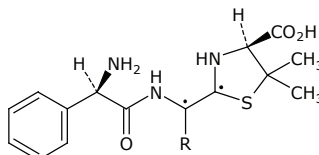


B. Asam (2S,5R,6R)-6-[[[(2S)-2-amino-2-fenilasetil]

amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat (L-ampisilin).

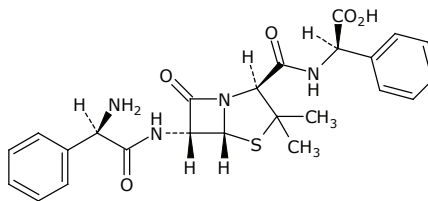


C. Asam (4S)-2-(3,6-dioxa-5-fenilpiperazin-2-il)-5,5-dimetiltiazolidina-4-karboksilat (diketo piperazin dari ampisilin).

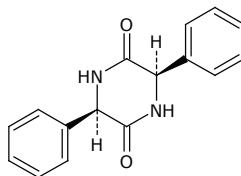


D. R = CO<sub>2</sub>H: Asam (4S)-2-[[[(2R)-2-amino-2-fenilasetil]amino]karboksimetil]-5,5-dimetiltiazolidina-4-karboksilat (asam penisiloinat dari ampisilin).

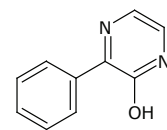
F. R = H: (2RS,4S)-2-[[[(2R)-2-amino-2-fenilasetil]amino]metil]-5,5-dimetiltiazolidina-4-karboksilat (asam penisiloinat dari ampisilin).



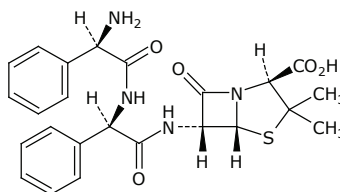
E. Asam (2R)-2-[[[(2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-amino-2-fenilasetil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-il]karbonil]amino]-2-fenilasetil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat (ampisilininil-D-fenilglisina).



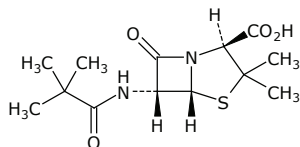
G. (3R,6R)-3,6-difenilpiperazin-2,5-dion.



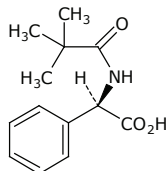
H. 3-fenilpirazina-2-ol.



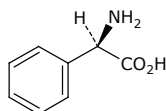
I. Asam (2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-amino-2-fenilasetil]amino]-2-fenilasetil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat (D-fenilglisil ampisilin).



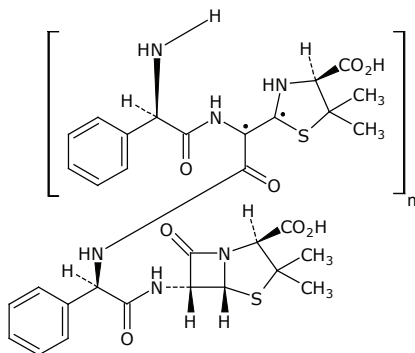
- J. Asam (2S,5R,6R)-6-[(2,2-dimetilpropanoil)amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat.



- K. Asam (2R)-2-[(2,2-dimetilpropanoat)amino]-2-fenilasetat.



- L. Asam (2R)-2-amino-2-fenilasetat (D-fenilglisina).



- M. *co*-oligomer dari ampicillin dan dari asam penisilat dari ampicillin.

### Penyimpanan

Kedap udara, pada suhu tidak lebih dari 30°C.

### Khasiat

Antibiotik

## Amoksisilin Minyak Injeksi

### Definisi

Amoksisilin minyak injeksi adalah suspensi steril amoksisilin trihidrat dalam minyak yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung amoksisilin,  $C_{16}H_{19}N_3O_5S$  tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Karakteristik

**Pemerian.** Suspensi minyak berwarna putih atau hampir putih.

### Identifikasi

Pada sediaan setara 0,25 g amoksisilin, ekstraksi tiga kali, masing-masing dengan 20 ml petroleum benzin

(titik didih 120°—160°C), buang ekstrak. Bilas residu dengan eter dan keringkan dengan aliran udara. Residu memenuhi uji berikut:

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar amoksisilin trihidrat.
- Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel 60 F<sub>254</sub>S (RP-18) atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 10 volume aseton, 90 volume amonium asetat 15,4% b/v, atur pH 5,0 dengan asam asetat glasial.

**Larutan (1).** Larutkan residu dalam natrium hidrogen karbonat sampai konsentrasi amoksisilin 0,25% b/v.

**Larutan (2).** Standar amoksisilin trihidrat 0,25% b/v dalam larutan natrium hidrogen karbonat.

**Larutan (3).** Standar amoksisilin trihidrat 0,25% b/v dan standar ampisilin trihidrat 0,25% b/v dalam larutan natrium hidrogen karbonat.

Totolkan secara terpisah 1 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara, paparkan dengan uap iodium sampai bercak nampak. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) adalah sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak yang diperoleh dengan larutan (2). Uji tidak absah kecuali jika bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

**Pirogen.** Tidak dipersyaratkan untuk sediaan amoksisilin minyak injeksi.

### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan penetapan potensi dengan cara yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
- Lakukan dengan metode kromatografi cair menggunakan:

**Larutan (1).** Pada sediaan setara 60 mg amoksisilin dengan 15 ml petroleum benzin (titik didih 120°—160°C), sentrifus dan buang lapisan supernatan. Ekstraksi dua kali, masing-masing dengan 15 ml petroleum benzin (titik didih 120°—160°C). Larutkan residu dalam 20 ml eter, sentrifus, buang lapisan supernatan dan keringkan residu dengan aliran udara. Larutkan dan encerkan residu dalam fase gerak A sampai batas volume 100 ml, aduk dan saring.

**Larutan (2).** Standar amoksisilin trihidrat 0,070% b/v dalam fase gerak A.

**Larutan (3).** Standar sefadroksil 0,0004% b/v dan standar amoksisilin trihidrat 0,003% b/v dalam fase gerak A.

**Kolom.** Hypersil 5 ODS, ukuran 25 cm × 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak A.** Campuran 1 volume asetonitril dan 99 volume kalium dihidrogen ortofosfat 25% v/v, atur pH 5,0 dengan natrium hidroksida 2 M.

**Fase gerak B.** Campuran 20 volume asetonitril dan 80 volume kalium dihidrogen ortofosfat 25% v/v, atur pH 5,0 dengan natrium hidroksida 2 M.

Campuran 8 volume fase gerak B dan 92 volume fase gerak A

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injeks.** 50 µl dari setiap larutan.

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3), faktor resolusi antara puncak amoksisilin dan sefadroksil adalah 2,0. Jika diperlukan sesuaikan komposisi fase gerak untuk mencapai hasil tersebut.

### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap udara, steril dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Amoksisilin Trihidrat Serbuk Oral

### Definisi

Amoksisilin trihidrat serbuk oral mengandung amoksisilin trihidrat.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut:

Mengandung amoksisilin trihidrat tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Memenuhi uji identifikasi seperti yang tertera pada amoksisilin trihidrat.

**Klorida.** Tidak lebih dari 1,5%, dihitung sebagai natrium klorida terhadap zat anhidrat. Pada 0,3 g zat uji, tambah 10 ml asam nitrat, 10 ml perak nitrat 0,1 M dan panaskan dalam penangas air selama 30 menit. Dinginkan, tambah 50 ml air dan 2 ml nitrobenzene. Titrasi dengan amonium tiosianat 0,1 M menggunakan indikator larutan amonium besi (III) sulfat. Setiap ml perak nitrat 0,1 M setara dengan 5,845 mg NaCl.

### Penetapan potensi/kadar

Lakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotika
2. Lakukan dengan metode spektrofotometer menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,17 g dengan air sampai batas volume 500 ml dan saring. Pada 10 ml hasil saringan, tambah 10 ml asam borat pH

9,0, 1 ml campuran asam asetat glasial dengan 1 ml dioksan, biarkan selama 5 menit dan tambah air sampai batas volume 100 ml. Pindahkan masing-masing 2 ml ke dalam 2 tabung yang berbeda, tambah ke tabung satu 10 ml larutan imidazol-raksa, campur dan panaskan diatas penangas air pada suhu 60°C selama 25 menit sambil kadang-kadang di aduk perlahan-lahan, dinginkan secara cepat sampai suhu 20°C. Pada tabung ke 2, tambah 10 ml air. Ukur serapan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 325 nm dengan blanko campuran 2 ml air dan 10 ml larutan imidazol-raksa.

### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Amoksisilin Tablet

### Definisi

Amoksisilin tablet mengandung amoksisilin trihidrat.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut:

Mengandung amoksisilin  $C_{16}H_{19}N_3O_5S$  tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera dalam etiket.

### Identifikasi

A. Lakukan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika 60 F<sub>254</sub>S (RP-18) atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 10 volume aseton dan 90 volume amonium asetat 15,4% b/v, atur pH 5,0 dengan asam asetat glasial.

**Larutan (1).** Larutkan sediaan setara 0,25 g amoksisilin dalam 100 ml larutan natrium hidrogen karbonat.

**Larutan (2).** Standar amoksisilin trihidrat 0,25% b/v dalam larutan natrium hidrogen karbonat.

**Larutan (3).** Standar amoksisilin trihidrat 0,25% b/v dan ampicilin trihidrat 0,25% b/v dalam larutan natrium hidrogen karbonat.

Totolkan secara terpisah 1 µl dari setiap larutan berikut. Angkat lempeng dan keringkan di udara, paparkan pada uap iodium sampai bercak nampak. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) adalah sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak yang diperoleh dengan larutan (2). Uji tidak absah kecuali jika kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

B. Pada sediaan setara dengan 0,5 g amoksisilin, tambah 5 ml air, kocok selama 5 menit dan saring. Bilas residu dengan etanol absolut dan eter.



Keringkan dengan tekanan tidak melebihi 0,7 kPa selama 1 jam. Suspensikan 10 mg residu dalam 1 ml air, tambahkan 2 ml campuran 2 ml larutan tembaga tartrat dan 6 ml air. Segera terbentuk warna ungu.

- C. Larutkan 0,1 ml anilin dalam campuran 1 ml asam hidroklorida dan 3 ml air. Dinginkan larutan dalam es dan tambahkan 1 ml larutan segar natrium nitrit 20% b/v. Teteskan larutan ke dalam larutan dingin dari 0,1 g residu yang diperoleh dalam uji B didalam 2 ml natrium hidroksida 5M. Larutan menjadi merah dan terbentuk endapan coklat.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut.

- Lakukan penetapan potensi dengan cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.
- Lakukan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Pada sediaan setara 60 mg amoksisilin, tambah 80 ml fase gerak A dan aduk selama 15 menit. Campur dan sonikasi selama 1 menit, tambah fase gerak A sampai batas volume 100 ml, aduk dan saring.

**Larutan (2).** Standar amoksisilin trihidrat 0,070% b/v dalam fase gerak A.

**Larutan (3).** Standar sefadroksil 0,0004% b/v dan standar amoksisilin trihidrat 0,003% b/v dalam fase gerak A.

**Injek.** 50 µl dari setiap larutan.

Kolom dan laju alir seperti yang tertera dalam amoksisilin minyak injeksi. Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3), faktor resolusi antara puncak amoksisilin dan sefadroksil adalah sedikitnya 2,0. Jika perlu, sesuaikan komposisi fase gerak.

#### Penyimpanan

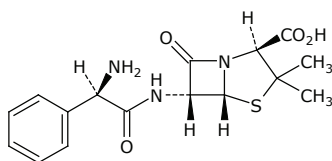
Dalam wadah tertutup, kedap, dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

### Ampisilin

*Ampicillin*



$C_{16}H_{19}N_3O_4S$

BM: 349,41

[69-53-4]

#### Definisi

Ampisilin anhidrat mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 100,5% dari asam 2S,5R,6R)-

6-[[[(2R)-2-amino-2-fenilasetil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptan-2-karboksilat, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Agak sukar larut dalam air, praktis tidak larut dalam aseton, alkohol, dan minyak. Larut dalam asam encer dan alkali hidroksida encer. Terlihat polimorfism

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, D.

Identifikasi kedua: B, C, D.

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar ampisilin.
- Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel H

**Larutan uji.** Larutkan 25 mg zat uji dalam 10 ml natrium hidrogen karbonat.

**Larutan standar (a).** Larutkan 25 mg standar ampisilin anhidrat dalam 10 ml natrium hidrogen karbonat.

**Larutan standar (b).** Larutkan 25 mg standar amoksisilin trihidrat dan ampisilin anhidrat dalam 10 ml natrium hidrogen karbonat.

**Fase gerak.** Campur 10 volume aseton dan 90 volume amonium asetat 154 g/l, atur pH 5,0 dengan asam asetat glasial.

Totolkan secara terpisah pada lempeng 1 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan kering di udara, semprot dengan iodium.

Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, warna dan ukuran dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan dua bercak terpisah.

- Pada 2 mg tambah 0,05 ml air dan 2 ml asam sulfat-formaldehid, aduk. Larutan tidak berwarna. Panaskan di dalam penangas air selama 1 menit, terbentuk warna kuning.
- Memenuhi uji kadar air.

**Kejernihan larutan.** Larutkan 1 g dalam 10 ml asam hidroklorida 1M, dan 1 g dalam 3 ml campuran amoniak encer 5M. Segera setelah disolusi, larutan tidak lebih opalesen di banding larutan standar.

**pH.** Larutan 0,25% b/v. pH 3,5—5,5.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 62,5 mg dalam air sampai 25,0 ml. Rotasi jenis antara +280° sampai +305°, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera pada penetapan potensi/kadar, dengan cara:

**Injek.** Larutan standar (c) dan lakukan elusi isokratik.

**Injek.** Larutan uji (b) dan lakukan elusi isokratik.

Segera setelah puncak ampisilin terelusi, lakukan program linier gradien. Jika komposisi fase gerak telah diatur untuk menghasilkan resolusi yang diinginkan, atur komposisi gradien pada waktu nol.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0	85	15
30	0	100
45	0	100

Ekuilibrasi kolom dengan fase gerak selama 15 menit. Injek fase gerak A dan gunakan elusi gradien yang sama. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b), area puncak yang merupakan bagian dari puncak utama dan puncak yang terlihat pada kromatogram blanko tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (1,0%).

**N,N-Dimetilanilin.** Tidak lebih dari 20 ppm.

**Air.** Tidak lebih dari 2,0%. Gunakan 0,3 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,5%. Gunakan 1,0 g.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 27,0 mg zat uji dalam fase gerak A sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan dan encerkan 27,0 mg zat uji dalam fase gerak A sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 27,0 mg standar ampisilin anhidrat dalam fase gerak A sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 2,0 mg standar sefradin dalam fase gerak A sampai batas volume 50,0 ml. Ambil 5,0 ml dan tambahkan 5,0 ml larutan standar (a).

**Larutan standar (c).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dengan fase gerak A sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar (d).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dengan fase gerak A sampai batas volume 25,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 0,25 m x 4,6 mm.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Fase gerak A.** Campuran 0,5 ml asam asetat encer, 50 ml kalium dihidrogen fosfat 0,2M dan 50 ml asetonitril. Encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

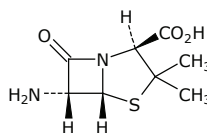
**Fase gerak B.** Campuran 0,5 ml asam asetat encer, 50 ml kalium dihidrogen fosfat 0,2M dan 400 ml asetonitril. Encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

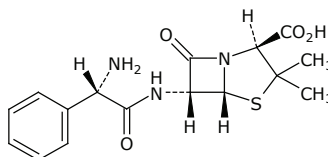
**Injek.** 50  $\mu\text{l}$

Ekuilibrasi kolom dengan fase gerak A:B (85:15). Injek larutan standar (b). Uji tidak absah kecuali jika, resolusi dua puncak utama adalah 3,0. Jika perlu, atur komposisi fase gerak A:B. Puncak utama ampisilin adalah 2,0—2,5. Injek larutan standar (d). Perbandingan puncak utama dengan pengganggu adalah 3. Injek 6 kali larutan standar (a). Uji tidak absah kecuali jika, simpangan baku relatif puncak utama tidak lebih dari 1,0%. Injek larutan uji (a) dan standar (a) secara berurutan.

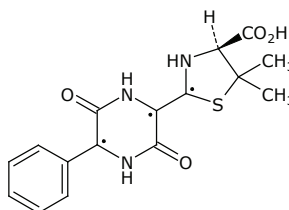
#### Ketidakhurnian



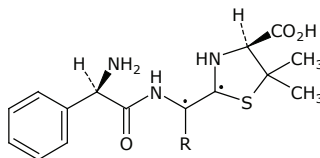
- A. Asam (2S,5R,6R)-6-amino-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat (asam 6-aminopenisilanat).



- B. Asam (2S,5R,6R)-6-[[[(2S)-2-amino-2-fenilasetil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat (L-ampisilin).

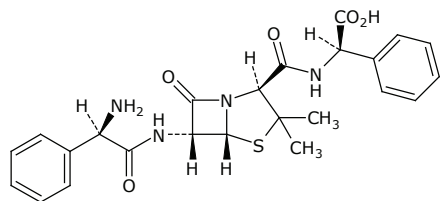


- C. Asam (4S)-2-(3,6-diokso-5-fenilpiperazin-2-il)-5,5-dimetiltiazolidina-4-karboksilat (diketopiperazin dari ampisilin).

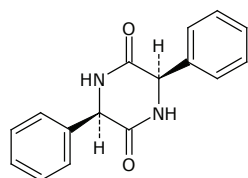


- D. R = CO<sub>2</sub>H: Asam (4S)-2-[[[(2R)-2-amino-2-fenilasetil]amino]karboksimetil]-5,5-dimetiltiazolidina-4-karboksilat (asam penisiloat dari ampisilin).

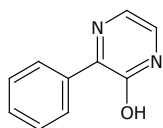
- E. R = H: Asam (2R,4S)-2-[[[(2R)-2-amino-2-fenilasetil]amino]metil]-5,5-dimetiltiazolidina-4-karboksilat (asam penisiloat dari ampisilin).



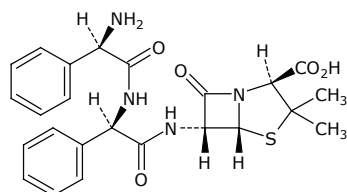
- E. Asam (2R)-2-[[[(2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-amino-2-fenilasetil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-il]karbonil]amino]-2-fenilasetat (ampisilinil-D-fenilglisina).



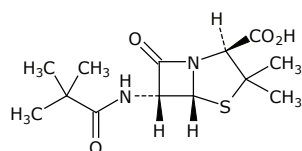
- G. (3R,6R)-3,6-difenilpiperazin-2,5-diona.



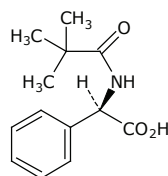
- H. 3-fenilpirazin-2-ol.



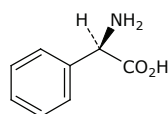
- I. Asam (2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-amino-2-fenilasetil]amino]-2-fenilasetil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat (D-fenilglisil ampisilin).



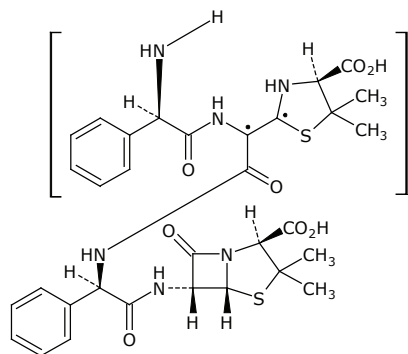
- J. Asam (2S,5R,6R)-6-[(2,2-dimetilpropanoil)amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat.



- K. Asam (2R)-2-[(2,2-dimetilpropanoat)amino]-2-fenilasetat.



- L. Asam (2R)-2-amino-2-fenilasetat (D-fenilglisina).



- M. co-oligomer dari ampisilin dan dari asam penisiloat dari ampisilin.

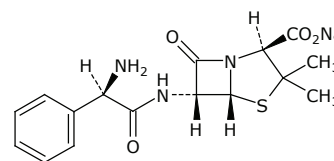
**Penyimpanan**

Kedap udara, pada suhu tidak lebih dari 30°C.

**Khasiat**

Antibiotik.

**Ampisilin Natrium**  
*Ampicillin Sodium*



C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>4</sub>S      BM: 371,4      [69-52-3]

**Definisi**

Ampisilin natrium mengandung tidak kurang dari 91,0% dan tidak lebih dari 100,5% dari (2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-amino-2-fenilasetil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptan-2-karboksilat, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih, higroskopik.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam aseton, praktis tidak larut dalam minyak lemak dan paraffin cair.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: A, D.

Identifikasi kedua: B, C, D.

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar ampisilin trihidrat. Larutkan 0,25 g dalam 5 ml air, tambah 0,5 ml asam asetat encer, aduk dan diamkan selama 10 menit dalam air es. Saring, bilas dengan 2—3 ml campuran 1 volume air dan 9 volume aseton serta keringkan dalam pada suhu 60°C selama 30 menit.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel H

**Larutan uji.** Larutkan 25 mg zat uji dalam 10 ml natrium hidrogen karbonat.

**Larutan standar (a).** Larutkan 25 mg standar ampisilin anhidrat dalam 10 ml natrium hidrogen karbonat.

**Larutan standar (b).** Larutkan 25 mg standar amoksisilin trihidrat dan ampisilin anhidrat dalam 10 ml natrium hidrogen karbonat.

**Fase gerak.** Campur 10 volume aseton dan 90 volume amonium asetat 154 g/l, atur pH 5,0 dengan asam asetat glasial.

Totolkan secara terpisah pada lempeng 1 µl dari setiap larutan. Biarkan lempeng mengering di udara, semprot dengan iodium. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, warna dan ukuran dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan dua bercak terpisah.

C. Pada 2 mg tambah 0,05 ml air dan 2 ml asam sulfat-formaldehid, aduk. Larutan tidak berwarna. Panaskan di dalam penangas air selama 1 menit, terbentuk warna kuning.

D. Menunjukkan reaksi garam natrium.

**Kejernihan larutan.** Larutkan 1 g dalam 10 ml asam hidroklorida 1 M (lakukan dengan hati-hati). Secara terpisah larutkan 1 g dalam air dan encerkan dengan asam hidroklorida 1 M sampai volume 10,0 ml. Segera setelah disolusi, larutan tidak lebih opalesen dibanding larutan standar. Serapan larutan pada panjang gelombang 430 nm tidak lebih besar dari 0,15.

**pH.** Larutkan dan encerkan 2 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 20 ml. pH 8,0—10,0 (ukur pH dalam 10 menit setelah disolusi).

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 62,5 mg dalam kalium hidrogen ftalat (4 g/l) sampai volume 25,0 ml. Rotasi jenis antara +258° sampai +287°, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera pada penetapan potensi/kadar.

Injek 50 µl larutan standar (d) dan elusi isokratik sampai puncak ampisilin terelusi.

Injek 50 µl larutan uji (b) dan elusi isokratik.

Segera setelah puncak ampisilin terelusi, lakukan program linier gradien. Jika komposisi fase gerak telah diatur untuk menghasilkan resolusi yang diinginkan, atur komposisi gradien pada waktu nol.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)	Keterangan
0—30	85 → 0	15 → 100	Linier gradien
30—45	0	100	Isokratik
45—60	85	15	Re-ekuilibrasi

Ekuilibrasi kolom dengan fase gerak selama 15 menit. Injek fase gerak A dan gunakan elusi gradien yang sama. Injek larutan standar (e) dan gunakan elusi gradien yang sama. Puncak ampisilin pada kromatogram yang diperoleh larutan standar (e), mempunyai waktu tambat ampisilin adalah 2,8. Puncak lain pada kromatogram dengan larutan uji (b) tidak lebih besar dari 4,5 puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (d) (4,5%), puncak yang merupakan bagian dari puncak utama tidak lebih besar 2 kali area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (d) (2%).

**N,N Dimentilanilin.** Tidak lebih dari 20 ppm.

**Asam 2-Etilheksanoat.** Tidak lebih dari 0,8% b/b.

**Metilen klorida.** Tidak lebih dari 0,2% b/b. Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan standar internal.** Encerkan 1,0 ml etilen klorida dengan air sampai batas volume 500,0 ml.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 1,0 g zat uji dalam air sampai batas volume 10,0 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan 1,0 g zat uji dalam air, tambahkan 1,0 ml larutan standar internal dan encerkan dengan air sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 1,0 ml metilen klorida dalam air sampai batas volume 500,0 ml. Ambil 1,0 ml, tambahkan 1,0 ml larutan standar internal dan encerkan dengan air sampai 10,0 ml

**Kolom.** Makrogol 1000 (10%), ukuran 1,5 m x 4 mm, suhu 60°C, injektor 100°C.

**Gas pembawa.** Nitrogen, dengan laju alir 40 ml/menit.

**Detektor.** FID, suhu 150°C.

Hitung metilen klorida pada suhu 20°C dengan berat jenis 1,325 g/ml.

**Logam berat.** Pada 1,0 g, memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan standar timbal (10 ppm).

**Air.** Tidak lebih dari 2%. Gunakan 0,3 g

**Endotoksin bakteri.** Tidak lebih dari 0,15 IU/mg.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 31,0 mg zat uji dalam fase gerak A sampai volume 50,0 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan dan encerkan 31,0 mg zat uji dalam fase gerak A sampai 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 27,0 mg standar ampisilin anhidrat dalam fase gerak A sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 2,0 mg standar sefradin dalam fase gerak A sampai batas volume 50,0 ml. Ambil 5,0 ml dan tambahkan 5,0 ml larutan standar (a).

**Larutan standar (c).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dalam fase gerak A sampai volume 20,0 ml. Encerkan 1,0 ml dengan fase gerak A sampai volume 25 ml.

**Larutan standar (d).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dengan fase gerak A sampai 20,0 ml.

**Larutan standar (e).** Pada 0,2 g zat uji tambahkan 1,0 ml air, panaskan pada suhu 60°C selama 1 jam. Encerkan 0,5 ml dengan fase gerak A sampai 50 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5 µm, ukuran 0,25 m x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

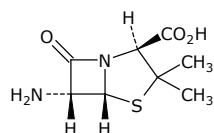
**Fase gerak A.** Campur 0,5 ml asam asetat encer, 50 ml kalium dihidrogen fosfat 0,2M dan 50 ml asetonitril, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Fase gerak B.** Campur 0,5 ml asam asetat encer, 50 ml kalium dihidrogen fosfat 0,2M dan 400 ml asetonitril, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

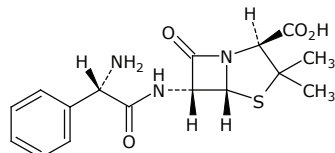
Ekuilibrasi kolom dengan fase gerak A:B (85:15). Injek 50 µl larutan standar (b). Uji tidak absah kecuali jika resolusi dua puncak utama adalah 3,0. Jika perlu, atur perbandingan fase gerak A:B. Puncak utama ampisilin adalah 2,0 sampai 2,5. Injek larutan standar (d). Atur puncak dengan *signal-to-noise* adalah 3. Injek 6 kali larutan standar (a). Uji tidak absah kecuali jika simpangan baku relatif puncak utama tidak lebih dari 1,0%. Injek larutan uji (a) dan standar (a) secara berurutan.

Hitung % ampisilin natrium dengan mengalikan % ampisilin dengan 1,063.

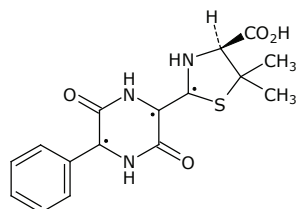
**Ketidakh murnian**



A. Asam (2S,5R,6R)-6-amino-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat (asam 6-amino penisilat).

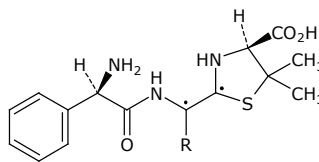


B. Asam (2S,5R,6R)-6-[(2S)-2-amino-2-fenilasetil] amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo [3.2.0] heptana-2-karboksilat (L-ampisilin).



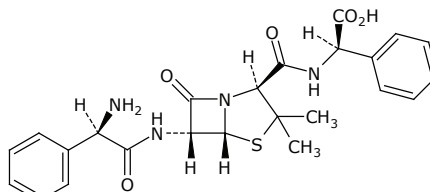
C. Asam (4S)-2-(3,6-dioksa-5-fenilpiperazin-2-il)-5,5-

dimetil tiazolidina-4-karboksilat (diketopiperazin dari ampisilin).

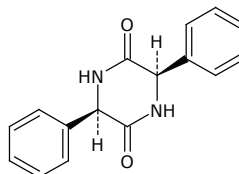


D. R = CO<sub>2</sub>H: (4S)-2-[[[(2R)-2-amino-2-fenilasetil] amino]karboksimetil]-5,5-dimetiltiazolidina-4-karboksilat (asam penisiloid dari ampisilin).

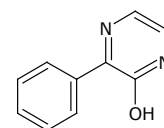
E. R = H: (2RS,4S)-2-[[[(2R)-2-amino-2-fenilasetil] amino]metil]-5,5-dimetil tiazolidina-4-karboksilat (asam penisiloid dari ampisilin).



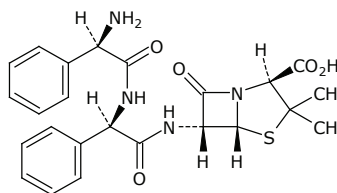
E. Asam (2R)-2-[[[(2S,5R,6R)-6-[(2R)-2-amino-2-fenilasetil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-il]karbonil]amino]-2-fenilasetat (ampisilinil-D-fenilglisina).



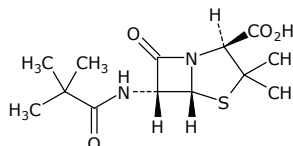
G. (3R,6R)-3,6-difenilpiperazin-2,5-diona.



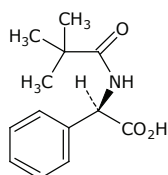
H. 3-fenilpirazin-2-ol.



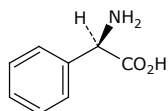
I. Asam (2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-[(2R)-2-amino-2-fenilasetil]amino]-2-fenilasetil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo [3.2.0] heptana-2-karboksilat (D-fenilglisil ampisilin).



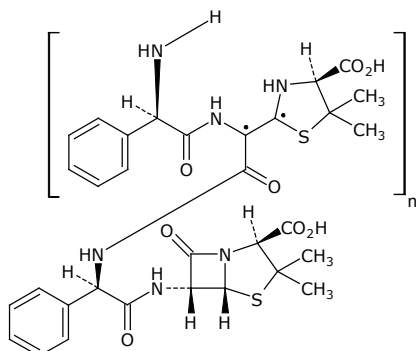
J. Asam (2S,5R,6R)-6-[(2,2-dimetilpropanoil)amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo [3.2.0] heptana-2-karboksilat.



K. Asam (2R)-2-[(2,2-dimetilpropanoat)amino]-2-fenilasetat.



L. Asam (2R)-2-amino-2-fenilasetat (D-fenilglisina).



M. *co*-oligomer dari ampicillin dan dari asam penisiloat dari ampicillin.

### Penyimpanan

Kedap udara, pada suhu tidak lebih dari 30°C.

### Khasiat

Antibiotik.

## Ampisilin Natrium dan Kloksasilin Natrium Infus Intramamari

### Definisi

Ampisilin natrium dan kloksasilin natrium infus intramamari adalah suspensi steril ampisilin natrium dan kloksasilin natrium dalam pembawa yang sesuai.

Infus intramamari memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk infus intramamari dan persyaratan berikut:

Mengandung ampisilin dan kloksasilin tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera dalam etiket.

### Identifikasi

A. Untuk ampisilin, lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel yang disemprot dengan larutan dinatrium edetat (0,1% b/v dalam natrium dihidrogen ortofosfat 5% b/v), biarkan kering di udara dan panaskan pada suhu 105°C selama 1 jam.

**Fase gerak.** Campur 10 volume butilasetat, 1 volume butan-1-ol, 6 volume asam asetat glasial dan 2 volume dinatrium edetat (0,1% b/v dalam natrium dihidrogen ortofosfat 5% b/v).

**Larutan (1).** Sediaan setara dengan 50,0 mg ampisilin, ekstraksi 3 kali, masing-masing dengan 15 ml petroleum benzin. Buang ekstrak dan bilas residu dengan 10 ml eter, keringkan di udara. Larutkan residu dalam 50 ml dapar fosfat pH 7, aduk dan saring. Gunakan hasil saringan.

**Larutan (2).** Stantar ampisilin 0,12% b/v dalam dapar fosfat pH 7.

Totolkan terpisah pada lempeng 1 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng, biarkan kering di udara, panaskan pada suhu 105°C selama 10-15 menit, semprot dengan campuran 100 volume kanji, 6 volume asam asetat glasial dan 2 volume iodium (1% b/v dalam kalium iodida 4% b/v). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (2).

B. Untuk kloksasilin, lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel F<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Campuran 70 volume kalium hidrogen ftalat 0,05 M, 30 volume aseton dan 1 volume asam format, atur pH 7,0 dengan natrium hidroksida 5 M dan kemudian pH 9,0 dengan natrium hidroksida 0,1 M.

**Larutan (1).** Larutan yang dibuat sama seperti pada identifikasi A menggunakan sediaan setara dengan 130 mg kloksasilin.

**Larutan (2).** Standar kloksasilin natrium 0,28% b/v dalam dapar fosfat pH 7,0.

Totolkan terpisah pada lempeng 1 µl dari setiap larutan. Lanjutkan seperti yang tertera pada identifikasi A dimulai dari "Angkat lempeng.....". Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (2).

Sediaan setara 50 mg ampisilin, ekstraksi 3 kali, masing-masing dengan 15 ml petroleum benzin.

**Kadar air.** Tidak lebih dari 1% v/v. Gunakan 1,5 g dan campuran 70 volume kloroform dan 30 volume metanol anhidrat sebagai pelarut.

### Penetapan potensi/kadar

**Ampisilin.** Lakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera Penetapan Hayati Antibiotika.
2. Lakukan dengan metode spektrofotometer dengan cara berikut:

Sediaan setara dengan 50,0 mg ampisilin, ekstraksi 3 kali, masing-masing dengan 15 ml petroleum benzin yang sebelumnya dijenuhkan dengan ampisilin natrium dan kloksasilin natrium. Buang cairan ekstrak, bilas residu dengan eter yang telah dijenuhkan dengan ampisilin natrium dan kloksasilin natrium, keringkan di udara. Larutkan dan encerkan residu dalam air sampai batas volume 100 ml. Sentrifus dan gunakan cairan supernatan

(larutan A). Encerkan 2 ml larutan A sampai 50 ml dengan dapar tembaga sulfat pH 5,2. Pindahkan 10 ml kedalam tabung tertutup dan panaskan diatas penangas air pada suhu 75°C selama 30 menit. Dinginkan segera dalam suhu ruangan, encerkan dengan dapar sulfat pH 5,2 sampai 20 ml.

Ukur serapan pada panjang gelombang 320 nm, menggunakan blanko yang dibuat dengan mengencerkan 2 ml larutan A dengan dapar tembaga sulfat pH 5,2 sampai volume batas volume 100,0 ml.

**Kloksasilin.** Lakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera Penetapan Hayati Antibiotika.
2. Lakukan dengan metode spektrofotometer dengan cara berikut:

Encerkan 2 ml larutan A dengan asam hidroklorida 1 M sampai batas volume 100,0 ml. Dinginkan sampai suhu 20°C, setelah tepat 12 menit.

Ukur serapan pada panjang gelombang 350 nm, menggunakan asam hidroklorida 1 M sebagai blanko.

#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Ampisilin Natrium Injeksi

#### Definisi

Ampisilin natrium injeksi adalah larutan steril ampisilin natrium dalam air untuk injeksi. Dipersiapkan dengan melarutkan ampisilin natrium dalam air untuk injeksi segera sebelum digunakan.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0%, dari jumlah yang tertera dalam etiket.

#### Identifikasi

Lakukan seperti yang tertera pada ampisilin natrium.

**Pirogenitas.** Memenuhi uji pirogenitas.

**Sterilitas.** Memenuhi uji sterilitas.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan seperti yang tertera dalam ampisilin natrium.

#### Penyimpanan

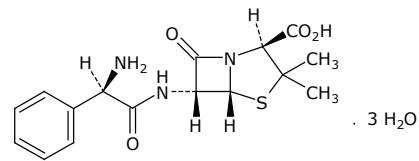
Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Ampisilin Trihidrat

*Ampicillin Trihydrate*



$C_{16}H_{19}N_3O_4S \cdot 3H_2O$

BM: 403,5

[7177-48-2]

#### Definisi

Ampisilin trihidrat mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 100,5% dari asam (2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-amino-2-fenilasetil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisklo [3.2.0] heptan-2-karboksilat, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Sukar larut dalam air, praktis tidak larut dalam alkohol dan minyak lemak. Larut dalam asam encer dan alkali hidroksida encer.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, D.

Identifikasi kedua: B, C, D.

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar ampisilin trihidrat.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Xilanisasi silika gel H.

**Larutan uji.** Larutkan 25 mg zat uji dalam 10 ml larutan natrium hidrogen karbonat.

**Larutan standar (a).** Larutkan 25 mg standar ampisilin trihidrat dalam 10 ml larutan natrium.

**Larutan standar (b).** Larutkan 25 mg standar amoksisilin trihidrat dan 25 mg standar ampisilin trihidrat dalam 10 ml larutan natrium hidrogen karbonat.

**Fase gerak.** Campur 10 volume aseton dan 90 volume amonium asetat (154 g/l), atur pH 5,0 dengan asam asetat glasial.

Totolkan secara terpisah 1 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan kering di udara, semprot dengan iodium.

Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, warna dan ukuran dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a). Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan dua bercak terpisah.

C. Pada 2 mg tambah 0,05 ml air dan 2 ml asam sulfat-formaldehid, aduk. Larutan tidak berwarna. Panaskan di dalam penangas air selama 1 menit, terbentuk warna kuning.

D. Memenuhi uji kadar air.

**Kejernihan larutan.** Larutkan 1 g dalam 10 ml asam hidroklorida 1 M, dan secara terpisah larutkan 1 g

dalam 10 ml amoniak encer. Segera setelah disolusi, larutan tidak lebih opalesen dibanding larutan standar.

**pH.** Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam air bebas karbon dioksida sampai 40 ml. pH 3,5—5,5.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 62,5 mg dalam air sampai 25,0 ml. Rotasi jenis antara +280° sampai +305°, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti tertera pada penetapan potensi/kadar.

**Injek.** Larutan standar (c) dan elusi isokratik.

**Injek.** Larutan uji (b) dan elusi isokratik.

Segera setelah puncak ampisilin terelusi, lakukan program linier gradien. Jika komposisi fase gerak telah diatur untuk menghasilkan resolusi yang diinginkan, atur komposisi gradien pada waktu nol.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0	85	15
30	0	100
45	0	100

Ekuilibrasi kolom dengan fase gerak yang dipilih selama 15 menit. Injek fase gerak A dan gunakan elusi gradien yang sama, puncak yang merupakan bagian dari puncak utama dan puncak lain yang terlihat pada kromatogram blanko tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (1,0%).

**N,N-Dimetilanilin.** Tidak lebih dari 20 ppm.

**Air.** 12,0%—15,0%. Gunakan 0,1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,5%.Gunakan 1 g.

### Penetapan potensi/kadar

Lakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 31,0 mg zat uji dalam fase gerak A sampai volume 50,0 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan dan encerkan 31,0 mg zat uji dalam fase gerak A sampai 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 27,0 mg standar ampisilin anhidrat dalam fase gerak A sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 2,0 mg standar sefradin dalam fase gerak A sampai batas volume 50,0 ml. Ambil 5,0 ml dan tambahkan 5,0 ml larutan standar (a).

**Larutan standar (c).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dalam fase gerak A sampai 20,0 ml.

**Larutan standar (d).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (c) dengan fase gerak A sampai volume 25,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 0,25 m x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Fase gerak A.** Campuran 0,5 ml asam asetat encer, 50 ml kalium dihidrogen fosfat 0,2M dan 50 ml asetonitril, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

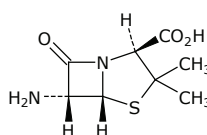
**Fase gerak B.** Campuran 0,5 ml asam asetat encer, 50 ml kalium dihidrogen fosfat 0,2M dan 400 ml asetonitril, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

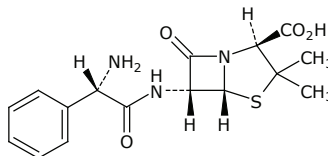
**Injek.** 50  $\mu\text{l}$ .

Ekuilibrasi kolom dengan fase gerak A:B (85:15). Injek larutan standar (b). Uji tidak absah kecuali jika resolusi dua puncak utama adalah 3,0. Jika perlu, atur perbandingan fase gerak A:B. Puncak utama ampisilin adalah 2,0—2,5. Injek larutan standar (d). Perbandingan puncak dengan puncak pengganggu adalah 3. Injek 6 kali larutan standar (a). Uji tidak absah kecuali jika simpangan baku relatif puncak utama tidak lebih dari 1,0%. Injek larutan uji (a) dan standar (a) secara berurutan. Hitung prosentase ampisilin.

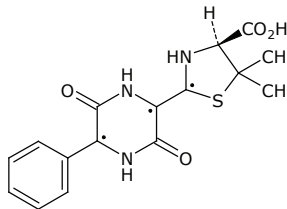
### Ketidakhurnian



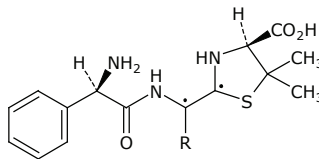
- A. Asam (2S,5R,6R)-6-amino-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat (asam 6-amino penisilinat).



- B. Asam (2S,5R,6R)-6-[[[(2S)-2-amino-2-fenilasetil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat (L-ampisilin).



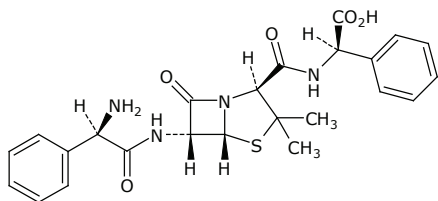
- C. Asam (4S)-2-(3,6-diokso-5-fenilpiperazin-2-il)-5,5-dimetiltiazolidina-4-karboksilat (diketopiperazin dari ampisilin).



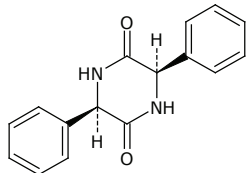
- D. R = CO<sub>2</sub>H: (4S)-2-[[[(2R)-2-amino-2-fenilasetil]amino]karboksimetil]-5,5-dimetiltiazolidina-4-karboksilat (asam penisiloin dari ampisilin).



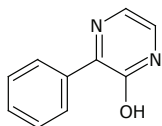
- F. R = H: (2R,4S)-2-[[[(2R)-2-amino-2-fenilasetil] amino]metil]-5,5-dimetil tiazolidina-4-karboksilat (asam penisiloat dari ampisilin).



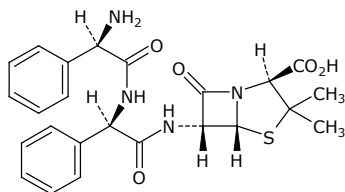
- E. Asam (2R)-2-[[[(2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-amino-2-fenilasetil] amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-il]karbonil] amino]-2-fenilasetat (ampisilinil-D-fenilglisina).



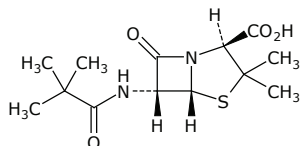
- G. (3R,6R)-3,6-difenilpiperazin-2,5-diona.



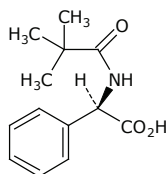
- H. 3-fenilpirazin-2-ol.



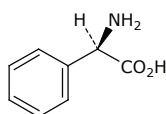
- I. Asam (2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-amino-2-fenilasetil] amino]-2-fenilasetil] amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat (D-fenilglisil ampisilin).



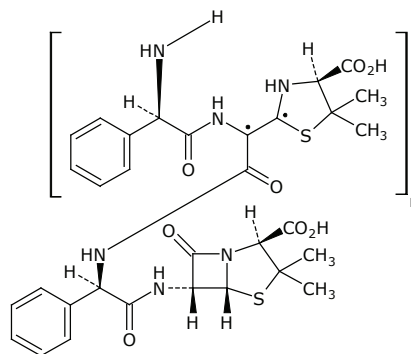
- J. Asam (2S,5R,6R)-6-[(2,2-dimetilpropanoil) amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat.



- K. Asam (2R)-2-[(2,2-dimetilpropanoat) amino]-2-fenilasetat.



- L. Asam (2R)-2-amino-2-fenilasetat (D-fenilglisina).



- M. co-oligomer dari ampisilin dan asam penisiloat dari ampisilin.

**Penyimpanan**

Kedap udara, pada suhu tidak lebih dari 30°C.

**Khasiat**

Antibiotik.

**Ampisilin Trihidrat dan Kloksasilin Benzatin Infus Intramamari**

**Definisi**

Ampisilin trihidrat dan kloksasilin benzatin infus intramamari adalah suspensi steril ampisilin trihidrat dan kloksasilin benzatin dalam pembawa yang sesuai.

Infus intramamari memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam infus intramamari dan persyaratan berikut:

Mengandung ampisilin dan kloksasilin tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera dalam etiket.

**Identifikasi**

A. Sediaan setara dengan 250,0 mg ampisilin, ekstraksi 3 kali, masing-masing dengan 15 ml petroleum benzin. Buang cairan ekstrak, bilas residu dengan 10 ml eter dan keringkan diudara. Aduk dengan 10 ml kloroform dan saring. Simpan residu dan hasil saringan. Bilas residu 2 kali, masing-masing dengan 5 ml kloroform, keringkan dalam desikator hampa udara pada suhu ruangan. Spektrum serapan inframerah dari residu sesuai dengan spektrum serapan standar ampisilin trihidrat.

B. Bilas hasil saringan 2 kali, masing-masing dengan 5 ml air, alirkan lapisan kloroform melalui natrium sulfat anhidrat, saring dan encerkan hasil saringan dengan kloroform sampai volume 20 ml. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar kloksasilin benzatin.

**Air.** Tidak lebih dari 3% b/v, gunakan 1,5 g dan campuran 70 volume kloroform dan 30 volume metanol mutlak sebagai pelarut.

**Penetapan potensi/kadar**

Sediaan setara dengan 60,0 mg ampisilin, ekstraksi tiga kali, masing-masing dengan 15 ml petroleum benzin yang telah dijenuhkan dengan ampisilin trihidrat dan

kloksasilin benzatin. Buang cairan ekstrak, bilas residu dengan eter yang telah dijenuhkan dengan ampisilin trihidrat dan kloksasilin benzatin, keringkan di udara. Larutkan dalam 50 ml metanol, tambah air sampai batas volume 100 ml. Sentrifus dan gunakan cairan supernatan (larutan A).

**Ampisilin.** Lakukan penetapan seperti yang tertera dalam ampisilin natrium dan kloksasilin natrium infus intramamari.

**Kloksasilin.** Lakukan penetapan seperti yang tertera dalam ampisilin natrium dan kloksasilin natrium infus intramamari.

#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap udara, steril dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Ampisilin Trihidrat Injeksi

#### Definisi

Ampisilin injeksi adalah suspensi steril ampisilin trihidrat dalam minyak yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut:

Mengandung ampisilin tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Suspensi minyak berwarna putih atau hampir putih.

#### Identifikasi

Sediaan setara 0,25 g amoksisilin, ekstraksi tiga kali, masing-masing 20 ml petroleum benzin (titik didih 120°—160°C), buang ekstrak. Bilas residu dengan eter dan keringkan dengan aliran udara. Residu memenuhi uji berikut:

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar ampisilin trihidrat
- Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel 60 F<sub>254</sub>S (RP-18) atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 10 volume aseton, 90 volume amonium asetat 15,4% b/v, pH 5,0 dengan asam asetat glasial.

**Larutan (1).** Larutkan residu dalam natrium hidrogen karbonat sampai amoksisilin 0,25% b/v.

**Larutan (2).** Standar ampisilin trihidrat 0,25% b/v dalam larutan natrium hidrogen karbonat.

**Larutan (3).** Standar ampisilin trihidrat 0,25% b/v dan standar amoksisilin trihidrat 0,25% b/v dalam larutan natrium hidrogen karbonat.

Totolkan secara terpisah 1 µl dari setiap larutan.

Angkat lempeng dan biarkan diudara hingga kering, paparkan dengan uap iodium sampai bercak nampak. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) adalah sesuai pada tempat, warna dan ukuran dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (2). Uji tidak absah kecuali jika bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

**Pirogen.** Tidak dipersyaratkan untuk sediaan ampisilin minyak injeksi.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan penetapan potensi dengan cara yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik
- Lakukan dengan metode kromatografi cair menggunakan:

**Larutan (1).** Pada sediaan, setara 60 mg ampisilin tambah 15 ml petroleum benzin (titik didih 120°—160°C), aduk dan sentrifus, buang lapisan supernatan. Lakukan ekstraksi dua kali, masing-masing dengan 15 ml petroleum benzin (titik didih 120°—160°C). Larutkan residu dalam 20 ml eter, sentrifus, buang lapisan supernatan dan biarkan residu kering dengan aliran udara. Larutkan residu dalam fase gerak A, tambahkan secukupnya sampai batas volume 100 ml, aduk dan saring.

**Larutan (2).** Standar ampisilin trihidrat 0,070% b/v dalam fase gerak A.

**Larutan (3).** Standar sefadroksil 0,0004% b/v dan standar ampisilin trihidrat 0,003% b/v dalam fase gerak A.

**Kolom.** Hypersil 5 ODS ukuran 25 cm × 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak A.** Campur 1 volume asetonitril dan 99 volume larutan 25% v/v kalium dihidrogen ortofosfat 0,2 M, atur pH 5,0 dengan natrium hidroksida 2 M.

**Fase gerak B.** Campur 20 volume asetonitril dan 80 volume larutan 25% v/v kalium dihidrogen ortofosfat 0,2 M, atur pH 5,0 dengan natrium hidroksida 2 M.

**Laju alir.** 1 ml permenit dari campuran 8 volume fase gerak B dan 92 volume fase gerak A.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek.** 50 µl dari setiap larutan.

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3), faktor resolusi antara puncak ampisilin dan sefadroksil adalah 2,0. Jika diperlukan sesuaikan komposisi fase gerak.

#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap udara, steril dan dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Ampisilin Trihidrat Kapsul****Definisi**

Ampisilin kapsul berisi ampisilin trihidrat. Kapsul memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk kapsul dan persyaratan berikut:

Mengandung amoksisilin,  $C_{16}H_{19}N_3O_5S$  tidak kurang dari 95% dan tidak lebih dari 105% dari jumlah yang tertera dalam etiket.

**Identifikasi**

A. Lakukan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika 60 F<sub>254</sub>S (RP-18) atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 10 volume aseton dan 90 volume amonium asetat 15,4% b/v, atur pH 5,0 dengan asam asetat.

**Larutan (1).** Larutkan sediaan setara 0,25 g ampisilin dalam 100 ml larutan natrium hidrogen karbonat.

**Larutan (2).** Standar ampisilin trihidrat 0,25% b/v dalam larutan natrium hidrogen karbonat.

**Larutan (3).** Standar ampisilin trihidrat 0,25% b/v dan amoksisilin trihidrat 0,25% b/v dalam larutan natrium hidrogen karbonat.

Totolkan secara terpisah 1 µl dari setiap larutan berikut. Angkat lempeng dan keringkan di udara, paparkan pada uap iodium sampai bercak nampak dan periksa. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) adalah sesuai pada tempat, warna dan ukuran dengan yang diperoleh dengan larutan (2). Uji tidak absah kecuali jika kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

B. Pada sediaan, setara 0,5 g ampisilin, tambah 5 ml air, aduk selama 5 menit dan saring. Bilas residu dengan etanol absolut, kemudian dengan eter. Keringkan dengan tekanan tidak melebihi 0,7 kPa selama 1 jam. Suspensikan 10 mg residu dalam 1 ml air, tambahkan 2 ml campuran 2 ml larutan tembaga tartrat dan 6 ml air. Segera terbentuk warna ungu.

C. Larutkan 0,1 ml anilin dalam campuran 1 ml asam hidroklorida dan 3 ml air. Dinginkan larutan dalam es dan tambahkan 1 ml larutan segar natrium nitrit 20% b/v. Teteskan larutan ke dalam larutan dingin dari 0,1 g residu yang diperoleh dalam uji B didalam 2 ml natrium hidroksida 5M. Larutan menjadi merah dan terbentuk endapan coklat.

**Penetapan potensi/kadar**

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut.

1. Lakukan penetapan potensi dengan cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik

2. Lakukan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Sediaan setara 60 mg ampisilin. tambah 80 ml fase gerak A, aduk selama 15 menit. Campur dan sonikasi selama 1 menit, tambah fase gerak A sampai batas volume 100 ml, aduk dan saring.

**Larutan (2).** Standar ampisilin trihidrat 0,070% b/v dalam fase gerak A.

**Larutan (3).** Standar sefadroksil 0,0004% b/v dan standar ampisilin trihidrat 0,003% b/v dalam fase gerak A.

**Injek.** 50 µl dari setiap larutan.

Kolom dan laju alir seperti yang tertera dalam amoksisilin minyak injeksi.

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3), faktor resolusi antara puncak ampisilin dan sefadroksil adalah 2,0. Jika perlu, sesuaikan komposisi fase gerak.

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Ampisilin Trihidrat Serbuk Oral****Definisi**

Ampisilin trihidrat serbuk oral mengandung ampisilin trihidrat.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut:

Mengandung ampisilin trihidrat tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera dalam etiket.

**Identifikasi**

A. Memenuhi uji identifikasi A pada ampisilin trihidrat, menggunakan larutan (1) zat uji ampisilin 0,2% b/v dan larutan (2) standar ampisilin trihidrat 0,2% b/v.

B. Teteskan 0,1 ml larutan ninhidrin 0,1% b/v diatas kertas saring, keringkan pada suhu 105°C, lapiskan 0,1 ml larutan uji 0,1% b/v dan panaskan pada suhu 105°C selama 5 menit biarkan hingga dingin terjadi warna lembayung muda.

C. Suspensikan 10 mg dalam 1 ml air, tambah 2 ml larutan kalium tembaga (II) tartrat dan 6 ml air, segera terjadi warna violet.

**Keseragaman bobot.** Memenuhi uji untuk keseragaman bobot.

**Penetapan potensi/kadar**

Lakukan penetapan seperti yang tertera pada ampisilin trihidrat.

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Ampisilin Trihidrat Tablet****Definisi**

Ampisilin tablet mengandung ampisilin trihidrat dalam pembawa yang sesuai.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut:

Mengandung ampisilin tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera dalam etiket.

**Identifikasi**

A. Lakukan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika 60 F<sub>254</sub>S (RP-18).

**Fase gerak.** Campur 10 volume aseton dan 90 volume amonium asetat 15,4% b/v, atur pH 5,0 dengan asam asetat glisial.

**Larutan (1).** Larutkan sediaan setara 0,25 g ampisilin dalam 100 ml larutan natrium hidrogen karbonat.

**Larutan (2).** Standar ampisilin trihidrat 0,25% b/v dalam larutan natrium hidrogen karbonat.

**Larutan (3).** Standar ampisilin trihidrat 0,25% b/v dan amoksisilin trihidrat 0,25% b/v dalam larutan natrium hidrogen karbonat.

Totolkan secara terpisah 1 µl dari setiap larutan berikut. Angkat lempeng dan keringkan di udara, paparkan pada uap iodium sampai bercak nampak dan periksa. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) adalah sesuai pada tempat, warna dan ukuran dengan yang diperoleh dengan larutan (2). Uji tidak absah kecuali jika kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

B. Pada sediaan setara dengan 0,5 g ampisilin tambah 5 ml air, aduk selama 5 menit dan saring. Bilas residu dengan etanol absolut, kemudian dengan eter. Keringkan dengan tekanan tidak melebihi 0,7 kPa selama 1 jam. Suspensikan 10 mg residu dalam 1 ml air, tambahkan 2 ml campuran 2 ml larutan tembaga tartrat dan 6 ml air. Segera terbentuk warna ungu.

C. Larutkan 0,1 ml anilin dalam campuran 1 ml asam hidroklorida dan 3 ml air. Dinginkan larutan dalam es dan tambahkan 1 ml larutan segar natrium nitrit 20% b/v. Teteskan larutan ke dalam larutan dingin dari 0,1 g residu yang diperoleh dalam uji B didalam 2 ml natrium hidroksida 5M. Larutan menjadi merah dan terbentuk endapan coklat.

**Penetapan potensi/kadar**

Lakukan dengan salah satu metode berikut.

1. Lakukan penetapan potensi dengan cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Sediaan setara 60 mg ampisilin, tambah 80 ml fase gerak A, aduk selama 15 menit. Campur dan sonikasi selama 1 menit, tambahkan fase gerak A sampai batas volume 100 ml, aduk dan saring.

**Larutan (2).** Standar ampisilin trihidrat 0,070% b/v dalam fase gerak A.

**Larutan (3).** Standar sefadroksil 0,0004% b/v dan standar ampisilin trihidrat 0,003% b/v dalam fase gerak A.

**Injek.** 50 µl dari setiap larutan.

Kolom dan laju alir seperti yang tertera dalam ampisilin minyak injeksi.

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3), faktor resolusi antara puncak ampisilin dan sefadroksil adalah 2,0. Jika perlu, sesuaikan komposisi fase gerak.

**Penyimpanan**

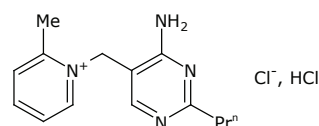
Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Amprolium Hidroklorida

*Amprolium Hydrochloride*



C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>ClN<sub>4</sub>, HCl

BM: 315,3

[137-88-2]

**Definisi**

Amprolium hidroklorida adalah 1-(4-amino-2-propil-pirimidin-5-ilmetil)-2-metil-piridinium hidroklorida.

Mengandung tidak kurang dari 97,5% dan tidak lebih dari 101% dari C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>ClN<sub>4</sub>, HCl, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih, tidak berbau atau hampir tidak berbau.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, sukar larut dalam etanol (96%), sangat sukar larut dalam eter, praktis tidak larut dalam kloroform.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar amprolium hidroklorida.

- B. Serapan cahaya. Larutan 0,002% b/v dalam larutan asam hidroklorida 0,1 M, pada panjang gelombang 230—350 nm menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 246 nm dan 262 nm dengan nilai 0,84 dan 0,80.
- C. Pada 1 mg tambah 5 ml larutan naftalenediol, terbentuk warna ungu.
- D. Menunjukkan reaksi klorida.

**Pikolin.** Larutkan 1,5 g dalam 30 ml air pada labu distilasi, tambahkan 20 ml larutan kalium karbonat seskuihidrat yang telah jenuh, hubungkan labu dengan aerator yang memanjang pada dasar silinder yang berukuran 100 ml yang mengandung 50 ml asam hidroklorida 0,05 M dan udara dapat lewat, dan sebelumnya telah dialiri asam sulfat dan kaca wol, jalankan sistem selama 60 menit. Pada 5 ml larutan asam hidroklorida tambah asam hidroklorida 0,05 M sampai batas volume 200 ml. Serapan larutan pada panjang gelombang 262 nm tidak lebih besar dari 0,52.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0% pada pengeringan dengan suhu 105°C dan tekanan tidak lebih dari 0,7 kPa sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.

#### Penetapan kadar

Lakukan titrasi bebas air, menggunakan 0,3 g zat uji dan larutan 1-naftolbenzen sebagai indikator, Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 15,77 mg  $C_{14}H_{19}ClN_4.HCl$ .

#### Penyimpanan

Dalam tempat tertutup rapat.

#### Khasiat

Koksidiostat.

## Amprolium dan Etopabat Serbuk Oral

#### Definisi

Amprolium dan etopabat serbuk oral mengandung amprolium hidroklorida dan etopabat.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut:

Mengandung amprolium hidroklorida dan etopabat tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

- A. Pada sediaan setara dengan 20 mg amprolium hidroklorida tambah 90 ml metanol, aduk dan saring. Pada 5 ml hasil saringan, tambah 5 ml naftalenediol, terjadi warna violet.
- B. Menggunakan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Campur 9 volume kloroform dan 1 volume metanol.

**Totolkan.** 2  $\mu$ l secara terpisah dari setiap larutan.

**Larutan (1).** Sediaan setara dengan 10 mg etopabat tambah aseton, aduk selama 10 menit dan hangatkan pada suhu 50°C, saring.

**Larutan (2).** Standar etopabat 0,04% b/v dalam aseton.

Totolkan secara terpisah 5  $\mu$ l dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan diudara. Periksa dengan sinar ultraviolet (254 nm). Bercak yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (2).

**Keasaman.** pH 2,5—4. Larutan dalam air bebas karbondioksida 25% b/v.

#### Penetapan kadar

**Amprolium hidroklorida.** Lakukan dengan metode spektrofotometer menggunakan larutan: Pada sediaan setara 50 mg amprolium hidroklorida tambah 100 ml campuran 2 volume metanol dan 1 volume air, aduk. Pada 4 ml tambah 10 ml larutan naftalenediol, biarkan selama 20 menit. Buat blanko menggunakan 4 ml campuran 2 volume metanol dan 1 volume air dengan 10 ml larutan naftalenediol, biarkan selama 10 menit. Ukur serapan pada panjang gelombang 520 nm.

**Etopabat.** Lakukan dengan metode spektrofotometer dengan larutan berikut: Panaskan sediaan setara 6 mg etopabat dengan 100 ml kloroform, gunakan refluks kondensor selama 15 menit, dan saring. Pada 50 ml hasil saringan, ekstraksi 2 kali, masing-masing dengan 25 ml asam hidroklorida 2 M, aduk, buang lapisan air. Ulangi menggunakan 25 ml natrium karbonat dan 25 ml air. Saring fase kloroform. Uapkan 10 ml hasil saringan sampai kering. Larutkan residu dalam 10 ml metanol, tambah 10 ml natrium hidroksida 1 M dan uapkan kembali sampai kering. Larutkan residu dalam 10 ml air, panaskan diatas penangas air selama 15 menit, tambah 10 ml asam hidroklorida 2 M, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml dan saring. Pada 25 ml hasil saringan tambah 2,5 ml asam hidroklorida 2 M dan 5 ml larutan natrium nitrit segar 0,1% b/v, biarkan selama 3 menit. Tambah 5 ml larutan amonium sulfamat segar 0,5% b/v, biarkan selama 2 menit. Tambah 5 ml larutan N-(1-naftil) etane-1,2-diamonium diklorida 0,1% b/v, biarkan selama 10 menit. Encerkan larutan dengan air sampai volume 50 ml. Gunakan blanko menggunakan 25 ml air dan dilanjutkan seperti cara diatas mulai dari "tambah 2,5 ml asam klorida 2 M.....". Ukur serapan pada panjang gelombang 540 nm.

#### Penyimpanan

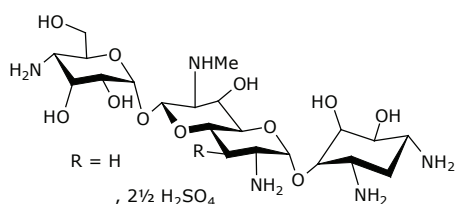
Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Apramisin Sulfat

### *Apramycin Sulphate*



$C_{21}H_{41}N_5O_{11} \cdot 2\frac{1}{2}H_2SO_4$       BM: 784,8      [41194-16-5]

### Definisi

Apramisin sulfat adalah sulfat dari 4-0-[(2R,3R,4aS,6R,7S,8R,8aR)-3-amino-6-(4-amino-4-deoksi- $\alpha$ -D-glukopiranosiloksi)-8-hidroksi-7-metilaminohidropirano [3,2-b]piran-2-il]-2-deoksistreptamin.

Diproduksi dari pertumbuhan *Streptomyces tenebrarius* tertentu atau diperoleh dengan cara-cara lain.

Potensi tidak kurang dari 430 Unit setiap mg, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk atau granular coklat; higroskopik.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air; praktis tidak larut dalam aseton, etanol (96%), eter dan metanol.

### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel Merck 60 F<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 20 volume kloroform, 40 volume amoniak 13 M dan 60 volume metanol, biarkan dalam tanki selama 1 jam sebelum digunakan.

**Larutan (1).** Zat uji 0,1% b/v dalam air.

**Larutan (2).** Standar apramisin 0,7% b/v dalam air.

**Larutan (3).** Standar apramisin 0,7% b/v dan standar tobramisin 0,7% b/v dalam air.

Totolkan secara terpisah masing-masing 5  $\mu$ l setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan dengan udara hangat, semprot dengan campuran larutan dengan volume yang sama dari asam sulfat 46% b/v dan larutan naftalen-1,3-diol 0,2% b/v didalam etanol (96%), panaskan pada suhu 150°C selama 5—10 menit. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan (2).

Uji tidak absah, kecuali jika kromatogram diperoleh dari larutan (3) menunjukkan dua bercak utama yang terpisah.

B. Pada uji untuk senyawa sejenis, waktu tambak puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan waktu tambak puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2).

C. Menghasilkan reaksi sulfat.

**Sulfat.** 25,0—30,0% SO<sub>4</sub>, yang dihitung dari zat yang telah dikeringkan. Lakukan dengan metode berikut: Larutkan 0,25 g dalam 100 ml air, atur pH 11 dengan amoniak 13,5 M dan tambah 10 ml barium klorida 0,1 M. Titrasi dengan dinatrium edetat 0,1 M menggunakan 0,5 mg ungu ftalein sebagai indikator; tambah 50 ml etanol (96%) ketika warna larutan mulai berubah, lanjutkan titrasi sampai warna violet-biru menghilang. Setiap ml barium klorida 0,1 M setara dengan 9,606 mg SO<sub>4</sub>.

**Turunan saerulomisin dan dipiridil.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan: Larutkan 0,5 g dengan air, tambah 10 ml metanol dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml. Pada 5 ml, tambah 5 ml dapar asetat (larutkan 8,3 g natrium asetat anhidrat dalam 25 ml air, tambahkan 12 ml asam asetat dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml). Campur dan tambahkan 1 ml larutan hidroksilamin hidroklorida 10% b/v di dalam air. Tambah 5 ml larutan amonium besi (II) sulfat 1% b/v dan encerkan dengan air sampai volume 25 ml. Ukur serapan pada panjang gelombang 520 nm, gunakan larutan blanko dari larutan tanpa penambahan zat uji. Nilai serapan tidak lebih besar dari yang diperoleh dengan cara mengulangi uji menggunakan 5 mg 2,2'-dipiridil yang dilarutkan dalam 10 ml metanol dan diencerkan dengan air sampai batas volume 100 ml serta dimulai dari "pindahkan 5 ml dalam labu-25 ml...".

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Zat uji 0,0% b/v dalam air. Encerkan 1 bagian volume dari larutan (1) dengan sampai batas volume 20 ml.

**Larutan (2).** Standar apramisin 0,5% b/v di dalam air.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 568 nm.

**Kolom.** Dionex Fast Cation-1R, 13  $\mu$ m atau yang sesuai, dengan ukuran 25 cm  $\times$  4 mm, dan kumpanan reaksi pos kolom (380 cm  $\times$  0,4 mm) dengan suhu dipertahankan 130°C.

**Pereaksi pasca kolom.** Pereaksi ninhidrin dalam kumpanan dengan laju alir kira-kira sama dengan fase gerak.

**Fase gerak A.** Natrium sitrat 1,961% b/v; fenol cair 0,08% v/v; dan 0,5% v/v dari tiodiglikol, atur pH 4,25 menggunakan asam hidroklorida.

**Fase gerak B.** Natrium klorida 4,09% b/v dan natrium sitrat 3,922% b/v dengan fenol cair 0,08% v/v, atur pH 7,4 dengan asam hidroklorida.

**Laju alir.** 0,8 ml per menit.

Ekuilibrasi kolom menggunakan campuran yang mengandung 75% fase gerak A dan 25% fase gerak B. Setelah injeksi, elusi selama 3 menit menggunakan campuran yang sama, lakukan linier gradien selama 6 menit dengan fase gerak B sampai 100%. Elusi lebih lanjut 21 menit menggunakan 100% fase gerak B, kemudian ekuilibrasi kembali dengan campuran 75%

fase gerak A dan 25% fase gerak B dan elusi untuk sedikitnya 10 menit.

Uji tidak absah, kecuali jika, kromatogram yang diperoleh larutan (2), faktor resolusi antara senyawa A dan 3-hidroksiapramisin, diidentifikasi sebagai standar kromatogram apramisin adalah 0,8.

Kromatogram yang didapat dari larutan (1) sesuai dengan 3-hidroksiapramisin, *lividamin/2-deoksistreptamin* (campuran), senyawa A dan senyawa B (diidentifikasi sebagai standar kromatogram apramisin) tidak lebih besar dari 2,8; 2,0; 0,8 dan 0,8 kali berturut-turut area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dari larutan (3) (7%, 5%, 2% dan 2% berturut-turut), area selain area puncak kedua, tidak lebih besar dari 0,8 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dari larutan (3) (2%) dan jumlah dari area puncak tidak lebih besar dari 6 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dari larutan (3) (15%). Abaikan puncak dengan area kurang dari 0,04 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dari larutan (3) (0,1%).

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 1%. Gunakan 1 g.

**Air.** Tidak lebih dari 10% b/b. Gunakan 0,25 g.

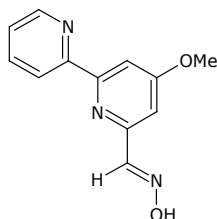
#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

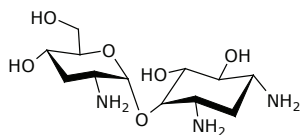
#### Penandaan

1) Unit setiap mg; 2) tanggal kadaluwarsa; 3) kondisi penyimpanan.

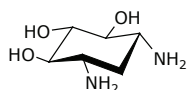
#### Ketidakhurnian



A. Kaerulomisin.



B. Lividamin.



C. 2-deoksistreptamin.

D. 3-hidroksiapramisin; R = OH.

E. Senyawa A.

F. Senyawa B.

#### Khasiat

Antibiotik.

## Apramisin Injeksi

### Definisi

Apramisin injeksi adalah larutan steril dari apramisin sulfat di dalam air untuk injeksi.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera dalam etiket.

### Karakteristik

**Pemerian.** Larutan berwarna kekuningan (amber).

### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis menggunakan:

**Lempeng.** Silika 60 F<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 20 volume kloroform, 40 volume amonia 13,5M dan 60 volume metanol. Jenuhkan tanki selama 1 jam sebelum digunakan.

**Larutan (1).** Sediaan setara 0,6 mg apramisin / ml.

**Larutan (2).** Standar apramisin 0,06% b/v.

**Larutan (3).** Standar apramisin 0,06% b/v dan standar tobramisin 0,06% b/v.

Totolkan secara terpisah 5 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara selama 10 menit, panaskan pada suhu 100°C selama 10 menit, semprot dengan larutan natrium hipoklorit sambil dipanaskan dan dinginkan selama 5 menit. Semprot dengan etanol absolut, panaskan pada suhu 100°C selama 5—10 menit, atau sampai area di bawah garis memberikan warna biru dengan satu tetesan larutan kalium iodida 1% b/v berisi kanji 1% b/v, dan semprot dengan larutan kanji-kalium iodida. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan yang diperoleh dengan larutan (2).

Uji tidak absah kecuali jika kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

B. Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji senyawa sejenis, waktu tambat puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan puncak utama yang diperoleh dengan larutan (2).

C. Memberikan reaksi sulfat.

**Keasaman atau kebasaaan.** pH 4,5—7,5.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Sediaan setara 3 mg/ml apramisin.

**Larutan (2).** Standar apramisin 0,30% b/v.

**Larutan (3).** Encerkan 1 volume larutan (1) sampai batas volume 20 volume.

**Kolom.** Dionex Fast Cation-1R atau yang sesuai ukuran 25 cm × 4 mm, 13 µm dan kumparan pereaksi pasca-kolom ukuran 380 cm × 0,4 mm dengan suhu 130°C.

**Laju alir.** Pereaksi ninhidrin sama dengan laju alir fase gerak.

**Fase gerak A.** Campur natrium sitrat 1,961% b/v, fenol cair 0,08% v/v dan tiodiglikol 0,5% v/v, atur pH 4,25 menggunakan asam hidroklorida.

**Fase gerak B.** Campuran natrium klorida 4,09% b/v, natrium sitrat 3,922% b/v dan fenol cair 0,08% v/v, atur pH 7,4 menggunakan asam hidroklorida.

**Laju alir.** 0,8 ml per menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 568 nm.

Ekuilibrasikan kolom menggunakan campuran 75% fase gerak A dan 25% fase gerak B. Setiap kali injeksi, elusi selama 3 menit menggunakan campuran yang sama. Kemudian lakukan elusi secara linier gradien selama 6 menit dengan fase gerak B sampai 100%. Elusi lebih lanjut selama 21 menit menggunakan 100% fase gerak B, kemudian secara bertahap ekuilibrasikan kembali dengan campuran 75% fase gerak A dan 25% fase gerak B serta elusi sedikitnya 10 menit.

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2), faktor resolusi antara campuran A dan 3-hidroksiapramisin, adalah 0,8. Area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan 3-hidroksiapramisin, lividamin 2-deoksistreptamin (campuran), senyawa A dan senyawa B (diidentifikasi sebagaimana ditunjukkan dalam kromatogram standar apramisin) tidak lebih besar dari 2,8, 2,0, 0,8 dan 0,8 kali berturut-turut dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) (7%, 5%, 2% dan 2% berturut-turut), Area selain puncak kedua tidak lebih besar 0,8 kali dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan (3) dan jumlah keseluruhan area puncak kedua tidak lebih besar dari 6 kali area puncak utama yang diperoleh dari kromatogram larutan (3) (15%). Abaikan puncak dengan area kurang dari 0,04 kali area puncak utama di kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) (0,1%).

**Pirogen.** Memenuhi uji untuk pirogen. Gunakan 2 ml larutan yang mengandung 10 mg apramisin / ml dalam natrium klorida untuk setiap kg berat kelinci.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi dengan cara seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.

#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap udara, steril dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Apramisin Serbuk Oral

#### Definisi

Apramisin serbuk oral mengandung apramisin sulfat. Serbuk memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk

sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk, granul berwarna coklat.

#### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika 60 F254.

**Fase gerak.** Campur 20 volume kloroform, 40 volume amonia 13,5 M dan 60 volume metanol. Jenuhkan tanki selama 1 jam sebelum digunakan.

**Larutan (1).** Larutkan dan encerkan sediaan setara 60 mg apramisin dalam air sampai batas volume 100 ml.

**Larutan (2).** Standar apramisin 0,06% b/v dalam air.

**Larutan (3).** Standar apramisin 0,06% b/v dan standar tobramisin 0,06% b/v dalam air.

Totolkan secara terpisah 5 µl dari setiap larutan berikut. Angkat lempeng dan keringkan di udara selama 5—10 menit, panaskan pada suhu 100°C selama 10 menit, semprot dengan larutan natrium hipoklorit panas dan dinginkan selama 5 menit. Semprot dengan etanol absolut, panaskan pada suhu 100°C selama 5—10 menit, atau sampai area di bawah garis memberikan warna biru dengan tetesan larutan 1% b/v kalium iodida berisi 1% b/v larutan kanji, dan semprot dengan larutan kanji-kalium iodida. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan yang di peroleh dengan larutan (2).

Uji tidak absah kecuali jika kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan dua bercak utama yang terpisah.

B. Periksa kromatogram yang diperoleh pada uji senyawa sejenis, waktu tambat puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan waktu tambat puncak utama yang diperoleh dengan larutan (2).

C. Memberikan reaksi sulfat.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, seperti yang tertera dalam apramisin injeksi.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi dengan cara seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup kedap dan dilindung dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.



## Asam Borat

*Boric Acid*

H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>                      BM: 61,83                      [10043-35-3]

### Definisi

Asam borat mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5% dari H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau tidak berwarna.

**Kelarutan.** Larut dalam air dan alkohol, mudah larut dalam air mendidih dan gliserol (85%).

### Identifikasi

- A. Larutkan 0,1 g dengan pemanasan perlahan-lahan dalam 5 ml metanol, tambah 0,1 ml asam sulfat dan panaskan larutan. Api harus hijau.
- B. Larutan S (lihat uji) adalah asam.

**Larutan S.** Larutkan 3,3 g dalam 80 ml air suling mendidih, dinginkan dan encerkan dengan air bebas karbon dioksida sampai batas volume 100 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S adalah jernih dan tidak berwarna.

**pH.** Larutan S adalah 3,8 sampai 4,8.

**Kelarutan dalam alkohol.** Larutkan 1,0 g dalam 10 ml alkohol. Larutan tidak lebih opalesen dari larutan standar dan tidak berwarna.

**Senyawa organik.** Tidak gelap pada pemanasan.

**Sulfat.** Pada 10 ml larutan S encerkan dengan air suling sampai 15 ml, Memenuhi uji batas sulfat (450 ppm).

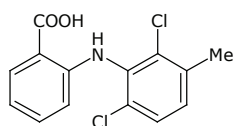
**Logam berat.** Pada 12 ml larutan S memenuhi uji batas logam berat (15 ppm). Gunakan 2,5 ml standar timbal (2 ppm Pb).

### Penetapan kadar

Larutkan 1,0 g dengan pemanasan dalam 100 ml air yang mengandung mannitol. Titrasi dengan natrium hidroksida 1 M menggunakan 0,5 ml indikator larutan fenolftalein, sampai warna merah muda. Setiap ml natrium hidroksida 1 M setara 61,8 mg H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>.

## Asam Meklofenamat

*Meclofenamic Acid*



C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>                      BM: 296,2                      [644-62-2]

### Definisi

Asam meklofenamat adalah N-(2,6-dikloro-m-tolil) asam antranilat.

Mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih

dari 100,5% dari C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air; larut dalam dimetilformamid dan natrium hidroksida 1 M; agak sukar larut dalam eter dan sukar larut dalam kloroform dan dalam etanol (96%).

### Identifikasi

- A. Spektrum serapan inframerah, sesuai dengan spektrum serapan standar asam meklofenamat.
- B. Serapan cahaya, antara 230—350 nm dari larutan 0,00% b/v dalam natrium hidroksida 0,1 M, menunjukkan dua serapan maksimum pada panjang gelombang 279 nm dan 317 nm dengan nilai sekitar 0,45 dan 0,33.
- C. Larutkan 25 mg dalam 15 ml kloroform. Larutan berfluoresensi biru kuat ketika diperiksa dengan sinar ultraviolet.
- D. Larutkan 1 mg dalam 2 ml asam sulfat dan tambah 0,05 ml kalium dikromat 0,02 M. Terbentuk warna ungu kuat dan dengan cepat berubah menjadi ungu kecoklatan.

**Kejernihan dan warna larutan.** Larutan 5,0% b/v dalam natrium hidroksida 1 M tidak opalesen dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan dengan larutan standar BY<sub>5</sub>.

**Serapan cahaya.** Serapan larutan 0,002% b/v dalam asam hidroklorida-metanol 0,01 M maksimum pada panjang gelombang 279 nm, tidak kurang dari 0,40 dan tidak lebih dari 0,445 dan pada panjang gelombang maksimum 335 nm, tidak kurang dari 0,44 dan tidak lebih besar dari 0,49.

**Logam berat.** Pada 1 g, memenuhi uji batas logam berat. Gunakan 2 ml larutan standar Pb (10 ppm Pb)

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan: larutan berikut:

**Larutan (1).** Standar etil meklofenamat 0,0035% b/v (standar internal) dalam etanol absolut.

**Larutan (2).** Zat uji 1,0% b/v dalam etanol absolut.

**Larutan (3).** Zat uji 1,0% b/v dan standar internal 0,0035% b/v dalam etanol absolut.

**Kolom.** Spherisorb ODS 1 10 µm atau yang sesuai, 20 cm × 4 mm.

**Fase gerak.** Campuran dari 1 volume asam asetat glasial, 25 volume air dan 75 volume metanol dengan laju alir: 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Uji tidak absah kecuali jika efisiensi kolom adalah sedikitnya 4500 plat teoritis setiap meter yang ditentukan dengan puncak standar internal pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1).

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3)

area puncak asam meklofenamat tidak lebih besar dari satu per tujuh area puncak standar internal (larutan 2,6-dikloro-3-metilanilin 0,05%). Area selain area puncak kedua, tidak lebih besar dari area puncak standar internal (0,35%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%, dengan pengeringan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,6 g dalam 100 ml etanol absolut hangat, yang sebelumnya dinetralkan terhadap larutan merah fenol. Titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 M menggunakan indikator larutan merah fenol. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 29,62 mg  $C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$ .

#### Khasiat

Obat penghilang sakit; anti radang.

## Asam Meklofenamat Granul

#### Definisi

Asam meklofenamat granul berisi asam meklofenamat dengan pembawa yang sesuai.

Granul memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk granul dan persyaratan berikut:

Mengandung asam meklofenamat, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

- Pada sediaan setara 0,2 g asam meklofenamat tambah 50 ml eter, aduk, saring dan uapkan sampai kering. Spektrum serapan inframerah dari residu, sesuai dengan spektrum serapan standar asam meklofenamat.
- Pada 5 ml supernatan yang diperoleh pada penetapan kadar, tambah natrium hidroksida 0,1 M sampai volume 50 ml dan aduk. Serapan cahaya antara 230–350 nm menunjukkan serapan maksimum pada 279 nm dan 317 nm.
- Larutkan 25 mg residu yang didapat pada uji A dalam 15 ml kloroform. Periksa dengan sinar ultraviolet, larutan memperlihatkan suatu fluoresensi biru.
- Larutkan 1 mg yang didapat pada uji A dalam 2 ml asam sulfat dan tambah 0,05 ml kalium dikromat 0,02 M. Terbentuk warna ungu kuat dan dengan ceptat menjadi keunguan.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Standar etil meklofenamat 0,0035% b/v (standar internal) dalam etanol absolut.

**Larutan (2).** Kocok sediaan setara 20 mg asam meklofenamat dengan 40 ml eter selama 20 menit, saring, uapkan sampai kering dan larutkan residu dalam 2,0 ml etanol (96%), jika diperlukan hangatkan.

**Larutan (3).** Larutkan residu dalam 2,0 ml etanol (96%) yang mengandung standar internal 0,0035% b/v.

**Kolom.** Spherisorb ODS 1 atau yang sesuai berukuran 20 cm × 4 mm.

**Fase gerak.** Campur 1 volume asam asetat glasial, 25 volume air dan 75 volume metanol.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Uji tidak absah kecuali jika efisiensi kolom adalah sedikitnya 4500 plat teoritis setiap meter, ditentukan menggunakan puncak standar internal pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1). Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) area puncak asam meklofenamat tidak lebih besar dari satu per tujuh area puncak standar internal (0,05% dari 2,6-dikloro-3-metilanilin). Area puncak kedua tidak lebih besar dari area puncak standar internal (0,35%).

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan: Pada sediaan, setara 25 mg asam meklofenamat tambah 150 ml campuran 1 volume asam hidroklorida 1 M dan 100 volume metanol, aduk selama 15 menit, encerkan dengan pelarut yang sama sampai batas volume 200 ml, sentrifus. Encerkan 10 ml supernatan dengan pelarut yang sama sampai batas volume 100 ml.

Ukur serapan pada panjang gelombang 335 nm. Hitung kadar dari  $C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$  dengan 235 sebagai nilai A (1%, 1 cm).

#### Penyimpanan

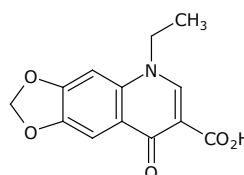
Asam meklofenamat granul harus disimpan dalam satu tempat kering.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Asam Oksolinat

*Oxolinic Acid*



$C_{13}H_{11}NO_5$

BM: 261,2

[14698-29-4]

#### Definisi

Asam oksolinat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% dari asam 5-etil-8-okso-5,8-dihidro-1,3-dioksolo[4,5-g] kuinolin-7-karboksilat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal hampir putih atau kuning pucat.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air dan alkohol, sangat sukar larut dalam metilen klorida. Larut dalam alkali hidroksida encer.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: B.

Identifikasi kedua: A, C.

- A. Larutkan 25,0 mg dalam 5 ml natrium hidroksida 0,1 M, panaskan di atas penangas air. Setelah dingin, encerkan dengan metanol sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 2,0 ml larutan dengan asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 100,0 ml. Periksa pada panjang gelombang 220 nm sampai 350 nm (2.2.25), menunjukkan tiga serapan maksimum pada panjang gelombang 260 nm, 322 nm dan 336 nm berturut-turut. Perbandingan serapan maksimum yang diperiksa pada panjang gelombang 260 nm adalah 4,9 sampai 5,2.
- B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar asam oksolinat.
- C. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan 10 mg zat uji dalam 3 ml natrium hidroksida encer dan encerkan dengan alkohol sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 10 mg standar asam oksolinat dalam 3 ml natrium hidroksida encer dan encerkan dengan alkohol sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 5 mg standar siprofloksasin hidroklorida dalam metanol sampai volume 10 ml. Encerkan 1 ml larutan dengan larutan standar (a) sampai volume 2 ml.

**Fase gerak.** Campur 10 volume asetonitril, 20 volume amoniak pekat, 40 volume metanol dan 40 volume metilen klorida.

Totolkan secara terpisah 10 µl dari setiap larutan. Paparkan lempeng didalam tanki yang mengandung 50 ml amoniak pekat selama 15 menit. Kembangkan lempeng dengan fase gerak. Angkat lempeng, keringkan di udara dan periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, fluoresensi dan ukuran dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

Uji tidak absah kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

**Larutan S.** Larutkan 0,6 g dalam 20 ml natrium hidroksida 40 g/l.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih besar intensitas warnanya dibandingkan larutan standar B<sub>7</sub>.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Selulosa.

**Larutan uji.** Larutkan 50 mg dalam 3 ml natrium hidroksida encer dan encerkan dengan alkohol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 1 ml larutan uji dengan alkohol sampai batas volume 50,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan alkohol sampai volume 5,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 2 mg ketidakh murnian B asam oksolinat dalam alkohol sampai volume 10 ml. Encerkan 0,5 ml larutan dengan alkohol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan 5 mg zat uji dan 5 mg ketidakh murnian A asam oksolinat dalam 2 ml natrium hidroksida encer serta encerkan dengan alkohol sampai volume 40 ml.

**Fase gerak.** Campur 15 volume amoniak, 30 volume air dan 55 volume propanol.

Totolkan secara terpisah pada lempeng 5 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai dengan ketidakh murnian B asam oksolinat tidak lebih besar dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,2%), bercak lain bukan dari bercak utama dan bercak lain sesuai dengan ketidakh murnian B asam oksolinat tidak lebih besar dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,4%).

Uji tidak absah kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

**Logam berat.** Pada 2,0 g memenuhi uji batas untuk logam berat (10 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5% dengan pengeringan pada suhu 105°C. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

**Penetapan kadar**

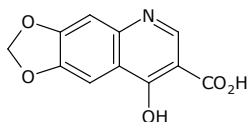
Larutkan 0,2 g dalam 150 ml dimetilformamid. Titrasi dengan tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M, tentukan titik-akhir secara potensiometrik. Gunakan elektroda indikator gelas dan elektroda standar kalomel mengandung, larutan elektrolit, kalium klorida dalam metanol. Lakukan titrasi blanko. Setiap ml tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M setara dengan 26,12 mg C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>5</sub>.

**Penyimpanan**

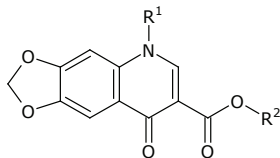
Dilindungi dari cahaya.

**Khasiat**

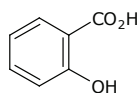
Anti-bakteri.

**Ketidakmurnian**

- A. Asam 8-hidroksi-1,3-dioksolo[4,5-g]kuinolina-7-karboksilat.



- B. R1 = R2 = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>; Etil 5-etil-8-okso-5,8-dihidro-1,3-dioksolo[4,5-g]kuinolina-7-karboksilat.  
 C. R1 = CH<sub>3</sub>, R2 = H: Asam 5-metil-8-okso-5,8-dihidro-1,3-dioksolo[4,5-g]kuinolina-7-karboksilat.

**Asam Salisilat***Salicylic Acid*C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>

BM: 138,1

[69-72-7]

**Definisi**

Asam salisilat mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5% dari asam 2-hidroksi-benzenkarboksilat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Kelarutan.** Serbuk kristal putih atau tidak berwarna, kristal asikular.

**Pemerian.** Sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol (96%), agak sukar larut dalam metilen klorida.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: A, C.

- A. Suhu lebur 158°—161°C.  
 B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar asam salisilat.  
 C. Larutkan 30 mg dalam 5 ml natrium hidroksida 0,05 M, encerkan untuk 20 ml dengan air dan netralkan bila perlu. Setiap ml larutan memberikan reaksi salisilat.

**Larutan S.** Larutkan 2,5 g dalam 50 ml air suling mendidih, dingin dan saring.

**Kejernihan larutan.** Larutkan 1 g dalam 10 ml etanol (96%). Larutan jernih dan tidak berwarna.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,50 g zat uji

dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg fenol dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 5 mg ketidakmurnian B asam salisilat dalam fase gerak sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 50 mg asam 4-hidroksibenzoat dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (d).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dengan fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (e).** Encerkan campuran masing-masing 1,0 ml setiap larutan standar (a), (b) dan (c) dengan fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (f).** Encerkan campuran masing-masing 0,1 ml setiap larutan standar (a), (b) dan (c) dengan fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5 µm, ukuran 0,15 m lama dan 4,6 mm.

**Fase gerak.** Campuran 1 volume asam asetat glasial, 40 volume metanol dan 60 volume air.

**Laju alir.** 0,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 270 nm.

**Injek.** 10 µl larutan standar (d) dan (e).

**Waktu tambat relatif terhadap fenol.** Asam 4-hidroksibenzoat sekitar 0,70 dan asam 4-hidroksisofthalat sekitar 0,90.

**Kesesuaian sistem.** Puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (f) sedikitnya 70% dari skala-penuh kromatogram.

Uji tidak absah kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e), puncak ketiga sesuai dengan puncak fenol yang diperoleh dengan larutan standar (d) dan resolusi antara puncak asam 4-hidroksisofthalat dan fenol adalah 1,0. Jika resolusi tidak diperoleh dari asam asetat dalam fase gerak.

**Injek.** 10 µl larutan uji dan 10 µl larutan standar (f).

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, area puncak antara asam 4-hidroksibenzoat, asam 4-hidroksisofthalat dan fenol tidak lebih besar dari area puncak yang diperoleh dengan larutan standar (f) (0,1% untuk asam 4-hidroksibenzoat; 0,05% untuk asam 4-hidroksisofthalat dan 0,02% untuk fenol).

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji: area puncak lain, bukan dari puncak utama dan puncak lain antara asam 4-hidroksibenzoat, asam 4-hidroksisofthalat dan fenol, tidak lebih besar dari puncak antara asam 4-hidroksisofthalat yang diperoleh dengan larutan standar (f) (0,05%).

**Jumlah ketidakmurnian lain.** Semua puncak selain puncak utama tidak lebih besar 2 kali area puncak antara asam 4-hidroksibenzoat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (f) (0,2%).

**Abaikan batas.** Puncak lain dengan area kurang

dari 0,01 kali puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (f).

**Klorida.** Pada 10 ml larutan S encerkan dengan air sampai volume 15 ml. Memenuhi uji batas klorida (100 ppm).

**Sulfat.** Tidak lebih dari 200 ppm. Larutkan 1,0 g dalam 5 ml dimetilformamid dan tambahkan 4 ml air, aduk. Tambahkan 0,2 ml asam hidroklorida encer dan 0,5 ml barium klorida 25% b/b. Setelah 15 menit opalesen lain dalam larutan tidak lebih besar intensitas warnanya dibandingkan standar (pada 2 ml larutan standar sulfat (100 ppm SO<sub>4</sub>) tambahkan 0,2 ml asam hidroklorida encer, 0,5 ml barium klorida 25% b/b, 3 ml air dan 5 ml dimetilformamid).

**Logam berat.** Larutkan 2,0 g sampai volume 15 ml etanol (96%) dan tambahkan 5 ml air. 12 ml larutan memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan standar timbal (2 ppm Pb) yang telah diencerkan standar timbal (100 ppm Pb) dengan campuran 5 volume air dan 15 volume etanol (96%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5% pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 2,0 g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,12 g sampai volume 30 ml etanol (96%) dan tambahkan 20 ml air. Titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 M, gunakan 0,1 ml larutan merah fenol sebagai indikator. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 13,81 mg C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>.

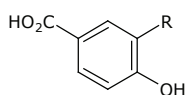
#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Keratolitik.

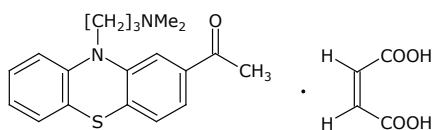
#### Ketidakmurnian



- R = H: Asam 4-hidroksibenzoat.
- R = CO<sub>2</sub>H: Asam 4-hidroksi isoptalat.
- Fenol.

## Asepromazin Maleat

*Acepromazine Maleate*



C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>OS, C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>

BM: 442,5

[3598-37-6]

#### Definisi

Asepromazin maleat adalah 2-asetil-10-(3-dimetilaminopropil) hidrogen fenotiazin maleat.

Mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>OS, C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub> dihitung dengan standar asepromazin maleat terhadap zat kering

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal berwarna kuning.

**Kelarutan.** Larut dalam air; mudah larut dalam kloroform; larut dalam etanol (96%); sukar larut dalam eter.

#### Identifikasi

- Larutkan 20 mg didalam 2 ml air, tambah 3 ml natrium hidroksida 2M, ekstraksi dengan 5 ml sikloheksan dan uapkan sampai kering. Spektrum serapan inframerah dari residu, sesuai dengan spektrum serapan standar asepromazin
- Memenuhi uji identifikasi dari fenotiazin, dengan menotolkan 1 µl dari setiap larutan dan menggunakan asepromazin maleat standar dari larutan (2).
- Larutkan 0,2 g dalam campuran dari 3 ml air dan 2 ml natrium hidroksida 5M, ekstraksi tiga kali menggunakan 3 ml eter. Tambah 2 ml larutan brom ke dalam fase air, hangatkan di atas penangas air selama 10 menit, panaskan hingga mendidih, dinginkan dan tambah 0,25 ml larutan yang berisi 10 mg resorsinol dalam 3 ml asam sulfat. Terbentuk warna hitam kebiru-biruan pada pemanasan di atas penangas air selama 15 menit.

**pH.** Larutan 1,0% b/v, 4,0—4,5.

**Suhu lebur.** 136°—139°C.

**Senyawa sejenis.** Sesuai dengan uji senyawa sejenis fenotiazin tetapi menggunakan fase gerak campuran 75 volume n-heksan, 17 volume butan-2-one dan 8 volume dietilamin.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0% pada pengeringan dengan suhu 105°C hingga bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,2%.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,4 g dalam 50 ml asam asetat glasial. Lakukan titrasi bebas air menggunakan kristal violet sebagai indikator. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 44,25 mg C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>OS, C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>.

#### Khasiat

Obat penenang.

## Asepromazin Injeksi

#### Definisi

Asepromazin injeksi adalah larutan steril asepromazin maleat dalam air untuk injeksi.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut:

Mengandung asepromazin, C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>OS tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

- A. Pada sediaan setara 20 mg asepromazin, tambah 2 ml air dan 3 ml natrium hidroksida 2 M, ekstraksi dua kali, masing-masing dengan 5 ml sikloheksan dan uapkan sampai kering. Spektrum serapan infra-merah dari residu sesuai dengan spektrum serapan standar asepromazin.
- B. Memenuhi uji identifikasi fenotiazin, tolokkan 1 µl dari setiap larutan berikut. Untuk larutan (1): ekstraksi 2 kali, sejumlah sediaan berisi 20 mg asepromazin dengan masing-masing 5 ml kloroform dan gunakan ekstrak. Larutan (2): larutan standar asepromazin maleat dalam kloroform berisi asepromazin 0,2% b/v.
- C. Pada 5 mg residu yang diperoleh dalam uji A, tambah 2 ml asam sulfat. Terbentuk warna kuning yang berubah menjadi orange dengan bantuan pemanasan
- D. Pada sediaan setara 25 mg asepromazin, tambah 2 ml natrium hidroksida 5 M. Ekstraksi 3 kali, masing-masing 3 ml eter. Tambah 2 ml larutan brom ke lapisan air, hangatkan dalam tangas air selama 10 menit, panaskan hingga mendidih dan dinginkan. Tambahkan 0,25 ml larutan yang mengandung 10 mg resorsinol dalam 3 ml asam sulfat dan panaskan selama 15 menit dalam tangas air. Terbentuk warna hitam.

**Keasaman.** pH 4,5—5,5.

**Penetapan kadar**

Pada sediaan, setara 40 mg asepromazin, tambah 5 ml natrium hidroksida 1 M, ekstrak dengan 50 ml kloroform beberapa kali sampai ekstrak kloroform tidak berwarna. Bilas ekstrak dengan 10 ml air dan saring melalui katun jerap yang sebelumnya dibasahi kloroform. Uapkan ekstrak sampai kering dan larutkan residu dalam 15 ml asam asetat glasial.

Lakukan titrasi bebas air menggunakan asam perklorat 0,02 M dan kristal violet sebagai indikator. Setiap ml asam perklorat 0,02 M setara dengan 6,529 mg  $C_{19}H_{22}N_2OS$ .

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Asepromazin Tablet****Definisi**

Asepromazin tablet mengandung asepromazin maleat. Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut:

Mengandung asepromazin,  $C_{19}H_{22}N_2OS$  tidak kurang 90% dan tidak lebih dari 110% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

- A. Pada sediaan, setara 20 mg asepromazin, tambah 2 ml air dan 3 ml natrium hidroksida 2 M. Ekstraksi

dua kali, masing-masing 5 ml sikloheksan dan uapkan hingga kering. Spektrum serapan infra-merah dari residu sesuai dengan spektrum serapan standar asepromazin.

- B. Memenuhi uji identifikasi fenotiazin, tolokkan 1 µl dari setiap larutan berikut:

**Untuk larutan (1).** Ekstraksi sejumlah sediaan, setara 20 mg asepromazin dua kali dengan masing-masing 5 ml kloroform.

**Larutan (2).** Adalah larutan standar asepromazin maleat 0,2% b/v dalam kloroform.

- C. Pada sediaan, setara 5 mg asepromazin, tambah 2 ml asam sulfat. Terbentuk warna kuning, hangatkan, warna berubah menjadi jingga.
- D. Larutkan sediaan, setara 25 mg asepromazin dalam campuran 3 ml air dan 2 ml natrium hidroksida 5 M, Ekstraksi tiga kali, masing-masing 3 ml eter. Tambah 2 ml larutan brom pada lapisan air, hangatkan di atas tangas air selama 10 menit, panaskan hingga mendidih dan dinginkan. Tambahkan 0,25 ml larutan 10 mg resorsinol dalam 3 ml asam sulfat dan panaskan selama 15 menit di atas tangas air. Terbentuk warna hitam.

**Senyawa sejenis.** Memenuhi uji senyawa sejenis dalam fenotiazin, tetapi menggunakan campuran 8 volume dietilamin, 17 volume butan-2-on dan 75 volume n-heksan sebagai fase gerak serta menggunakan larutan berikut:

**Larutan (1).** Ekstraksi sejumlah sediaan, setara 50 mg asepromazin dengan 10 ml kloroform, saring, uapkan sampai kering dan larutkan residu dalam 5 ml metanol yang mengandung 0,5% v/v amonia 13,5 M.

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan (1) sampai 100 volume dengan metanol yang mengandung 0,5% v/v amonia 13,5 M.

**Penetapan kadar**

Pada sediaan, setara dengan 60 mg asepromazin, tambah 5 ml air dan ekstraksi tiga kali atau lebih dengan masing-masing 50 ml kloroform atau sampai ekstrak kloroform tidak berwarna. Uapkan sampai kering dan larutkan residu dalam 15 ml asam asetat glasial.

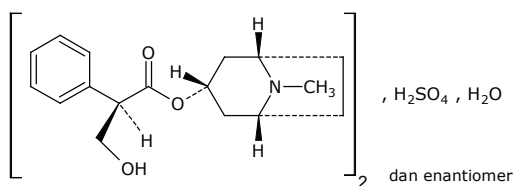
Lakukan titrasi bebas air, menggunakan asam perklorat 0,02 M dan larutan kristal violet sebagai indikator. Setiap ml asam perklorat 0,02 M adalah setara dengan 6,529 mg  $C_{19}H_{22}N_2OS$ .

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Atropin Sulfat

*Atropine Sulphate*



$C_{34}H_{46}N_2O_6$ ,  $H_2SO_4$ ,  $H_2O$       BM: 695      [5908-99-6]

### Definisi

Atropin sulfat mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari bis[(1R,3r,5S)-8-metil-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-il (2RS)-3-hidroksi-2-fenilpropanoat] asam sulfat, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau tidak berwarna.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air, mudah larut dalam alkohol.

Mempunyai suhu lebur  $190^{\circ}C$  dengan terjadi dekomposisi yang ditentukan dari zat yang dikeringkan pada suhu  $135^{\circ}C$  selama 15 menit.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B, E.

Identifikasi kedua: C, D, E, F.

Larutan memenuhi uji rotasi jenis.

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar atropin sulfat.
- Larutkan 50 mg dalam 5 ml air dan tambah 5 ml asam pikrat. Bilas endapan dengan air dan keringkan dengan suhu  $100^{\circ}-105^{\circ}C$  selama 2 jam. Suhu lebur  $174^{\circ}-179^{\circ}C$ .
- Pada 1 mg tambah 0,2 ml asam nitrat dan uapkan sampai kering diatas penangas air. Larutkan residu dalam 2 ml aseton dan tambah 0,1 ml kalium hidroksida (30 g/l) dalam metanol. Terbentuk warna violet.
- Memberikan reaksi sulfat.
- Memberikan reaksi alkaloid.
- pH** Larutkan dan encerkan 0,6 g dalam air bebas karbondioksida sampai 30 ml. pH 4,5—6,2.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 2,50 g dalam air sampai 25,0 ml. Rotasi jenis diukur menggunakan tabung 2 dm menunjukkan antara  $-0,50^{\circ}$  sampai  $+0,05^{\circ}$ .

**Alkaloid asing dan produk dekomposisi.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,2 g zat uji dalam metanol sampai 10 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 1 ml larutan uji dengan metanol sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5 ml larutan standar (a) dengan metanol sampai 10 ml.

**Fase gerak.** Campur 90 volume aseton, 7 volume air dan 3 volume amoniak pekat.

Totolkan secara terpisah 10  $\mu$ l of dari setiap larutan uji, larutan standar (a) dan (b). Angkat lempeng dan keringkan pada suhu  $100^{\circ}-105^{\circ}C$  selama 15 menit. Biarkan dingin dan semprot dengan kalium iodobismutat encer sampai bercak terlihat. Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, merupakan bagian dari bercak utama, tidak lebih kuat intensitas warnanya dibanding bercak yang diperoleh dengan larutan standar (a) (1,0%) dan tidak lebih dari satu bercak tidak lebih kuat intensitasnya warnanya dibanding bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

**Apoatropin.** Larutkan dan encerkan 0,10 g dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 100,0 ml. Ukur pada panjang gelombang 245 nm. Serapan tidak lebih besar dari 4,0, dihitung dengan standar anhidrat (0,5%).

**Air.** 2,0%—4,0%, Gunakan 0,50 g dan lakukan dengan semi-mikro.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%,gunakan 1 g.

### Penetapan kadar

Larutkan 0,50 g dalam 30 ml asam asetat glasial, bila perlu hangatkan. Dinginkan dan titrasi dengan asam perklorat 0,1 M. Titik akhir ditentukan secara potensiometrik.

Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 67,68 mg  $C_{34}H_{48}N_2O_{10}S$ .

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Khasiat

Antispasmodik.

## Atropin Sulfat Tetes Mata

### Definisi

Atropin tetes mata adalah larutan steril atropin sulfat dalam air murni atau pembawa yang sesuai.

Tetes mata memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tetes mata dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

- Memenuhi uji identifikasi A seperti yang tertera untuk atropin sulfat injeksi, menggunakan larutan (1) mengandung zat uji 5 mg atropin sulfat.
- Pada penetapan kadar, kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) menunjukkan puncak yang sesuai dengan puncak atropin sulfat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2).

### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Atropin sulfat kurang dari 0,1% b/v**

**Larutan (1).** Zat uji.

**Larutan (2).** Standar atropin sulfat 0,05% b/v dan homatropin hidrobromida 0,05% b/v dalam fase gerak

**Injek.** 100 µl.

**Atropin sulfat lebih dari 0,1% b/v**

**Larutan (1).** Zat uji 0,1% b/v dalam air.

**Larutan (2).** Standar atropin sulfat 0,1% b/v dan homatropin hidrobromida 0,1% b/v dalam fase gerak.

**Injek.** 20 µl.

**Kolom.** Nucleosil C 18, 5µm, ukuran 10 cm x 4,6 mm.

**Fase gerak.** Campuran natrium asetat 0,01 M dan natrium dioktil sulfosuksinat 0,005 M dalam metanol (60%), atur pH 5,5 dengan asam asetat.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 257 nm.

Uji tidak absah, kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2), faktor resolusi antara puncak atropin sulfat dan homatropin sulfat adalah 2,5.

Hitung kadar (%) atropin sulfat.

**Penyimpanan**

Dalam wadah, kedap dan terlindung dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Indikasi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

**Atropin Sulfat Injeksi****Definisi**

Atropin sulfat injeksi adalah larutan steril atropin sulfat dalam air untuk injeksi

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 1100% dari jumlah yang dinyatakan pada etiket.

**Identifikasi**

A. Lakukan dengan kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 50 volume kloroform, 40 volume aseton dan 10 volume dietilamin.

**Larutan (1).** Evaporasi sediaan yang mengandung atropin sulfat 5 mg sampai kering diatas penagas air. Larutkan residu dengan 1 ml etanol (96%), biarkan dan gunakan supernatan.

**Larutan (2).** Standar atropin sulfat 0,5% b/v dalam etanol.

Totolkan secara terpisah 5 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan dengan pemansan pada suhu 105°C selama 20 menit, biarkan dingin dan semprot dengan larutan kalium iodobismutat encer. Bercak pada kromatogram yang diperoleh

dengan larutan (1) sesuai dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (2).

B. Pada penetapan kadar, kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1), menunjukkan waktu tambat yang sama dengan waktu tambat atropin sulfat yang diperoleh dengan larutan (2)

**Keasaman.** pH 2,8—4,5.

**Penetapan kadar**

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Atropin sulfat kurang dari 0,1% b/v**

**Larutan (1).** Zat uji.

**Larutan (2).** Standar atropin sulfat 0,05% b/v dan homatropin hidrobromida 0,05% b/v dalam fase gerak.

**Injek.** 100 µl.

**Atropin sulfat lebih dari 0,1% b/v**

**Larutan (1).** Zat uji 0,1% b/v dalam air.

**Larutan (2).** Standar atropin sulfat 0,1% b/v dan homatropin hidrobromida 0,1% b/v dalam fase gerak.

**Injek.** 20 µl.

**Kolom.** Nucleosil C 18, 5µm, ukuran 10 cm x 4,6 mm.

**Fase gerak.** Campuran natrium asetat 0,01 M dan natrium dioktil sulfosuksinat 0,005 M dalam metanol (60%), atur pH 5,5 dengan asam asetat glasial.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 257 nm

Uji tidak absah kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2), faktor resolusi antara puncak atropin sulfat dan homatropin sulfat adalah 2,5.

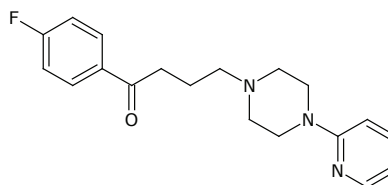
Hitung kadar (%) atropin sulfat.

**Penyimpanan**

Dalam wadah, kedap dan terlindung dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Indikasi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

**Azaperon**  
*Azaperone*

$C_{19}H_{22}FN_3O$

BM: 327,4

[1649-18-9]

**Definisi**

Azaperon adalah 1-(4-fluorofenil)-4-[4-(piridin-2-il)piperazin-1-il]butan-1-on.



Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% terhadap zat yang kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk yang hampir putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam aseton dan metilen klorida, larut dalam alkohol. Memerlihatkan polimorfism.

### Identifikasi

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar azaperon.

Jika spektrum yang diperoleh menunjukkan perbedaan, larutkan zat yang diuji dan standar secara terpisah dengan aseton, uapkan sampai kering. Periksa spektrum menggunakan residu.

**Kejernihan larutan.** Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar  $Y_6$ . Larutkan 1,0 g dalam 25 ml asam tartrat (4 g/l).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 5 mg standar azaperon dan 6 mg standar benperidol dalam sampai batas volume 200 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan metanol sampai batas volume 100 ml. Encerkan 5 ml larutan dengan metanol sampai volume 20 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 3  $\mu\text{m}$  ukuran 0,10 m x 4,6 mm, atau yang sesuai, dengan suhu 25°C.

**Fase gerak A.** Larutkan 1,4 g natrium sulfat anhidrat dalam 900 ml air, tambahkan 16 ml asam sulfat 0,01 M dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Fase gerak B.** Metanol.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0—15	95 → 20	5 → 80
15—20	20	80
20—21	20 → 95	80 → 5

**Laju alir.** 1,5 ml/min.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 230 nm.

Ekuilibrasi selama 4 menit dengan fase gerak komposisi awal.

**Injek.** 10  $\mu\text{l}$ .

Waktu tambat relatif standar azaperon sekitar 9 min; ketidakhurnian A sekitar 0,9; ketidakhurnian B sekitar 1,1; ketidakhurnian C sekitar 1,15.

### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (a).** Resolusi minimum 8 antara puncak azaperon dan benperidol.

### Batas

**Ketidakhurnian A.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang di peroleh dengan larutan standar (b) (0,25%).

**Jumlah ketidakhurnian B dan C.** Tidak lebih dari 3 kali area puncak utama pada kromatogram yang di peroleh dengan larutan standar (b) (0,75%).

**Total.** Tidak lebih dari 4 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,0%).

**Abaikan batas.** 0,2 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%, gunakan 1,0 g dengan vakum pemanasan pada suhu 60°C selama 4 jam.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

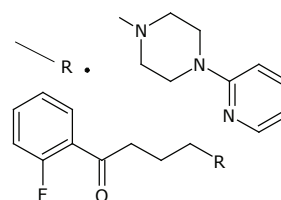
### Penetapan kadar

Larutkan 0,13 g dalam 70 ml campuran 1 volume asam asetat glasial dan 7 volume etil metil keton. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M, menggunakan 0,2 ml larutan naftolbenzen sebagai indikator. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 16,37 mg  $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{FN}_3\text{O}$ .

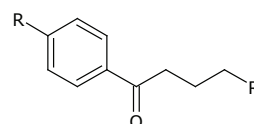
### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

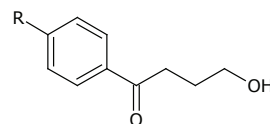
### Ketidakhurnian



A. 1-(2-fluorofenil)-4-[4-(piridin-2-il)piperazin-1-il]butan-1-on.



B. 4-[4-(piridin-2-il)piperazin-1-il]-1-[4-[4-(piridin-2-il)piperazin-1-il]fenil]butan-1-on.



C. 4-hidroksi-1-[4-[4-(piridin-2-il)piperazin-1-il]fenil]butan-1-on.

### Khasiat

Trankuiliser.

## Azaperon Injeksi

### Definisi

Azaperon injeksi adalah larutan steril azaperon dalam air untuk injeksi.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut:

Mengandung azaperon,  $C_{19}H_{22}FN_3O$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Karakteristik

**Pemerian.** Larutan jernih berwarna kuning.

### Identifikasi

- A. Pada sediaan setara 80 mg azaperon, tambah 5 ml asam sulfat 0,5M dan 20 ml air. Ekstraksi dengan 50 ml eter, buat lapisan air menjadi alkali dengan natrium hidroksida 1 M dan ekstraksi dengan 50 ml eter. Ekstraksi lapisan eter dua kali, masing-masing dengan 10 ml air, saring dengan natrium sulfat anhidrat. Uapkan hasil saringan sampai kering. Spektrum serapan inframerah residu sesuai dengan spektrum serapan standar azaperon.
- B. Serapan cahaya antara 230—350 nm dari larutan yang di peroleh pada penetapan kadar, menunjukkan serapan maksimum pada 242 nm dan pada 312 nm, dengan nilai sekitar 1,1 dan sekitar 0,38.

**Keasaman.** pH 3,5—5,0.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika 60 F<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Campur 1 volume etanol (96%) dan 9 volume kloroform.

**Larutan (1).** Larutkan ekstrak residu yang diperoleh untuk uji identifikasi A dalam kloroform konsentrasi azaperon 1% b/v.

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan (1) sampai batas volume 100 ml dengan kloroform.

Totolkan secara terpisah 10 µl dari larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak kedua pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (1%).

### Penetapan kadar

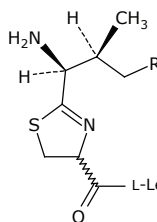
Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan: Pada sediaan setara 0,4 g azaperon, tambah 25 ml asam sulfat 0,5M dan air sampai batas volume 250 ml, aduk. Pada 10 ml larutan, tambah 10 ml asam sulfat 0,05M dan 20 ml eter, aduk. Bilas lapisan eter dua kali masing-masing dengan 10 ml asam sulfat 0,05M. Gabungkan ekstrak asam dan buat alkali dengan 5 ml natrium hidroksida 1 M, tambah 50 ml eter, kocok dan diamkan sampai terpisah. Ekstraksi lapisan air dengan 50 ml eter. Bilas lapisan eter, berturut-turut, dengan 20 ml air dan ekstraksi dua kali dengan 20 ml dan 5 ml asam sulfat 0,25M. Gabungkan ekstrak asam dan tambahkan asam sulfat 0,25M sampai batas volume 100 ml. Pada 5 ml larutan, tambahkan 5 ml metanol dan asam sulfat 0,25M sampai batas volume 100 ml. Lakukan proses yang sama menggunakan standar azaperon. Ukur serapan pada panjang gelombang 242 nm. Hitung kadar azaperon.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Basitrasin

*Bacitracin*



Nama	Rumus Molekul	X	Y	R
Basitrasin A	$C_{66}H_{103}N_{17}O_{16}S$	L-Ile	L-Ile	$CH_3$
Basitrasin B <sub>1</sub>	$C_{65}H_{101}N_{17}O_{16}S$	L-Ile	L-Ile	H
Basitrasin B <sub>2</sub>	$C_{65}H_{101}N_{17}O_{16}S$	L-Val	L-Ile	$CH_3$
Basitrasin B <sub>3</sub>	$C_{65}H_{101}N_{17}O_{16}S$	L-Ile	L-Val	$CH_3$

[1405-87-4]

### Definisi

Campuran dari polipeptida antimikroba yang diproduksi dari strain *Bacillus licheniformis* atau *Bacillus subtilis*, komponen utama adalah basitrasin A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> dan B<sub>3</sub>. Mengandung tidak kurang dari 60 IU/mg (zat kering).

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau hamper putih, higroskopik.

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

### Identifikasi

Identifikasi pertama: B, C.

Identifikasi kedua: A, C.

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 10 mg zat uji dalam asam hidroklorida (3,4 g/l) sampai volume 1,0 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 10 mg standar basitrasin seng dalam asam hidroklorida (3,4 g/l) sampai volume 1,0 ml.

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Asam asetat glisial, air dan butanol (1:2:4 v/v/v).

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 105°C. Semprot dengan larutan ninhidrin dan panaskan pada suhu 110°C selama 5 menit.

**Hasil.** Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji adalah sama pada tempat, ukuran dan warna terhadap bercak yang diperoleh dengan larutan standar.

- B. Memenuhi uji komposisi.  
 C. Pijarkan 0,2 g. Nyala residu tidak berwarna kuning pada suhu tinggi. Biarkan dingin. Larutkan residu dalam 0,1 ml asam hidroklorida encer, tambah 5 ml air dan 0,2 ml natrium hidroksida pekat. Tidak terbentuk endapan putih.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 25 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih.

**pH.** Larutan S 6,0—7,0.

**Komposisi.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 0,1 g zat uji dalam 50,0 ml fase gerak.

**Larutan standar (a).** Suspensikan 20,0 mg standar basitrasin seng dalam air, tambah 0,2 ml asam hidroklorida encer dan encerkan dengan air sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (b) dengan fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan 50,0 mg zat uji dalam 25,0 ml natrium edetat pH 7 (40 g/l). Panaskan dalam penangas air selama 30 menit. Dinginkan pada suhu ruang.

**Larutan blanko.** Natrium edetat pH 7 (40 g/l).

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil end-capped 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 0,25 m x 4,6 mm.

**Fase gerak.** Campur 520 volume metanol, 40 volume asetonitril, 300 volume air dan 100 volume dikalium hidrogen fosfat (34,8 g/l), atur pH 6 dengan kalium dihidrogen fosfat (27,2 g/l).

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer 254 nm.

**Injek.** 100  $\mu\text{l}$  blanko, larutan uji dan larutan standar (a) dan (c).

**Waktu uji.** 3 kali waktu tambat basitrasin A.

**Waktu tambat relatif.** Standar basitrasin A sekitar 15—25 menit, basitrasin B<sub>1</sub> sekitar 0,6, basitrasin B<sub>3</sub> sekitar 0,8, ketidakhurnian E sekitar 2,5.

Jika diperlukan, atur komposisi perbandingan metanol dan asetonitril dalam fase gerak.

#### Kesesuaian sistem larutan standar (a)

**System suitability.** Reference solution (a): Perbandingan puncak dan garis dasar minimum 1,2, dimana:

$H_p$  = tinggi dari garis dasar puncak basitrasin B<sub>1</sub>.

$H_v$  = tinggi dari garis dasar pada titik terendah puncak basitrasin B<sub>2</sub>.

#### Batas

**Basitrasin A.** Tidak kurang dari 40,0%.

**Jumlah basitrasin A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> dan B<sub>3</sub>.** Tidak kurang dari 70,0%.

**Abaikan batas.** Area puncak basitrasin A pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,5%), abaikan puncak lain dari blanko.

**Peptida sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair yang tertera dalam uji komposisi.

Pada kromatogram uji komposisi dalam basitrasin yang diperoleh dengan larutan uji pada panjang gelombang 254 nm. Puncak yang terelusi berturut-turut ketidakhurnian A, ketidakhurnian B, ketidakhurnian C, basitrasin B<sub>1</sub>, basitrasin B<sub>2</sub>, basitrasin B<sub>3</sub> dan basitrasin A.

#### Batas

**Jumlah area dari semua puncak yang terelusi sebelum puncak basitrasin B<sub>1</sub>.** Tidak lebih dari 20,0%.

**Ketidakhurnian E.** Lakukan dengan metode kromatografi cair yang tertera dalam uji komposisi.

Kromatogram uji ketidakhurnian E dalam basitrasin yang diperoleh dengan larutan standar (d) pada panjang gelombang 300 nm. Puncak yang terelusi berturut-turut basitrasin B<sub>1</sub>, basitrasin B<sub>3</sub>, basitrasin A dan ketidakhurnian E.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm dan 300 nm untuk larutan standar (d).

**Injek.** Larutan uji dan standar (b) dan (d).

#### Batas

**Ketidakhurnian E.** Tidak lebih dari 1,2 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan standar (b) (6,0%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 5,0%, dengan pemanasan pada suhu 60°C di atas fosfor pentoksida dan tekanan tidak lebih dari 0,1 kPa selama 3 jam. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 1,0%. Gunakan 1,0 g.

**Sterilitas.** Bila dipergunakan untuk tetes mata harus memenuhi uji sterilitas.

**Endotoksin bakteri.** Tidak lebih dari 0,8 IU/mg, bila digunakan untuk tetes mata.

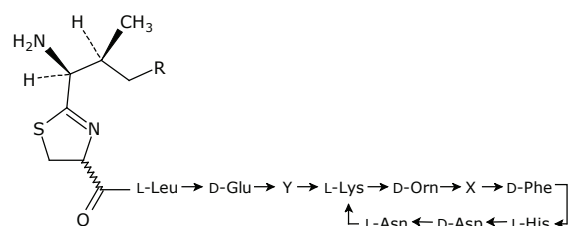
#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.

#### Penyimpanan

Kedap udara dan disimpan pada suhu 2°—8°C.

#### Ketidakhurnian

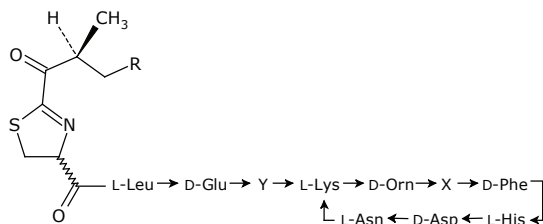


A. X = L-Val, Y = L-Ile, R = H: basitrasin C1.

B. X = L-Ile, Y = L-Val, R = H: basitrasin C2.

C. X = Y = L-Val, R = CH<sub>3</sub>: basitrasin C3.

D. X = Y = L-Val, R = H: basitrasin E.



E. X = Y = L-Ile, R = CH<sub>3</sub>: basitrasin F.

F. X = Y = L-Ile, R = H: basitrasin H1.

G. X = L-Val, Y = L-Ile, R = CH<sub>3</sub>: basitrasin H2.

H. X = L-Ile, Y = L-Val, R = CH<sub>3</sub>: basitrasin H3.

I. X = L-Val, Y = L-Ile, R = H: basitrasin I1.

J. X = L-Ile, Y = L-Val, R = H: basitrasin I2.

K. X = Y = L-Val, R = CH<sub>3</sub>: basitrasin I3.

### Khasiat

Anti-bakteri.

## Basitrasin Seng

### *Bacitracin Zinc*

### Definisi

Basitrasin seng adalah campuran polipeptida antimikroba yang diproduksi oleh strain *Bacillus liseniformis* atau *Bacillus subtilis*, senyawa utama adalah basitrasin A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> dan B<sub>3</sub>.

Mengandung minimum 60 IU/mg (zat kering).

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau kuning keabuan, higroskopik.

**Kelarutan.** Sukar larut dalam air dan alkohol.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: B, C.

Identifikasi kedua: A, C.

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 10 mg zat uji dalam 0,5 ml asam hidroklorida encer dan encerkan dengan air sampai volume 1,0 ml.

**Larutan standar.** Larutkan 10 mg standar basitrasin seng dalam 0,5 ml asam hidroklorida encer dan encerkan dengan air sampai volume 1,0 ml.

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Asam asetat glasial, air, butanol (1:2:4 v/v/v).

Totolkan secara terpisah 10 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 100°—105°C. Semprot dengan larutan ninhidrin dan panaskan pada suhu 110°C selama 5 menit. Bercak pada kromatogram yang diperoleh larutan uji sesuai pada tempat, ukuran dan warna dengan bercak yang diperoleh larutan standar.

B. Memenuhi uji komposisi (lihat uji komposisi).

C. Pijarkan 0,15 g, dinginkan dan larutkan residu dalam 1 ml asam hidroklorida encer. Tambahkan 4 ml air. Larutan memberikan reaksi seng.

**pH.** 6,0—7,5. Kocok 1,0 g selama 1 menit dengan 10 ml air bebas karbon dioksida dan saring.

**Komposisi.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 0,1 g zat uji dalam 50,0 ml fase gerak.

**Larutan standar (a).** Suspensikan 20,0 mg standar basitrasin seng dalam air, tambah 0,2 ml asam hidroklorida encer dan encerkan dengan air sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (b) dengan fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan 50,0 mg zat uji dalam 25,0 ml natrium edetat pH 7 (40 g/l). Panaskan dalam penangas air selama 30 menit. Dinginkan pada suhu ruang.

**Larutan blanko.** Natrium edetat pH 7 (40 g/l).

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil end-capped 5 µm, ukuran 0,25 m x 4,6 mm.

**Fase gerak.** Campur 520 volume metanol, 40 volume asetonitril, 300 volume air dan 100 volume dikalium hidrogen fosfat (34,8 g/l), atur pH 6 dengan kalium dihidrogen fosfat (27,2 g/l).

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer 254 nm.

**Injek.** 100 µl blanko, larutan uji dan larutan standar (a) dan (c).

**Waktu uji.** 3 kali waktu tambat basitrasin A.

**Waktu tambat relatif.** Standar basitrasin A sekitar 15—25 menit, basitrasin B<sub>1</sub> sekitar 0,6, basitrasin B<sub>3</sub> sekitar 0,8, ketidakmurnian E sekitar 2,5.

Jika diperlukan, atur komposisi perbandingan metanol dan asetonitril dalam fase gerak.

### Kesesuaian sistem larutan standar (a)

**System suitability.** Reference solution (a): Perbandingan puncak dan garis dasar minimum 1,2, dimana:

$H_p$  = tinggi puncak basitrasin B<sub>1</sub>.

$H_v$  = tinggi pada titik terendah puncak basitrasin B<sub>2</sub>.

### Batas

**Basitrasin A.** Tidak kurang dari 40,0%.

**Jumlah basitrasin A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> dan B<sub>3</sub>.** Tidak kurang dari 70,0%.

**Abaikan batas.** Area puncak basitrasin A pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,5%), abaikan puncak lain dari blanko.

**Peptida sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair yang tertera dalam uji komposisi.

Pada kromatogram uji komposisi dalam basitrasin

yang diperoleh dengan larutan uji pada panjang gelombang 254 nm. Puncak yang terelusi berturut-turut ketidakmurnian A, ketidakmurnian B, ketidakmurnian C, basitrasin B<sub>1</sub>, basitrasin B<sub>2</sub>, basitrasin B<sub>3</sub> dan basitrasin A.

**Batas**

**Jumlah area dari semua puncak yang terelusi sebelum puncak basitrasin B<sub>1</sub>.** Tidak lebih dari 20,0%.

**Ketidakhmurnian E.** Lakukan dengan metode kromatografi cair yang tertera dalam uji komposisi.

Kromatogram uji ketidakhmurnian E dalam basitrasin yang diperoleh dengan larutan standar (d) pada panjang gelombang 300 nm. Puncak yang terelusi berturut-turut basitrasin B<sub>1</sub>, basitrasin B<sub>3</sub>, basitrasin A, ketidakmurnian E.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm dan 300 nm untuk larutan standar (d).

**Injek.** Larutan uji dan standar (b) dan (d).

**Batas**

**Ketidakhmurnian E.** Tidak lebih dari 1,2 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan standar (b) (6,0%).

**Seng.** 4,0—6,0%. Larutkan 0,2 g dalam campuran 2,5 ml asam asetat encer dan 2,5 ml air. Tambah 50 ml air, 50 mg xilenol jingga dan heksametilentetramin sampai warna merah. Tambah 2 g heksametilentetramin dalam keadaan berlebihan. Lakukan titrasi dengan natrium edetat 0,01 M sampai warna kuning. Setiap ml natrium edetat 0,01 M setara 0,654 mg Zn.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 5,0% pada pengeringan dengan suhu 60°C di atas difosforus dan tekanan tidak melebihi 0,1 kPa sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

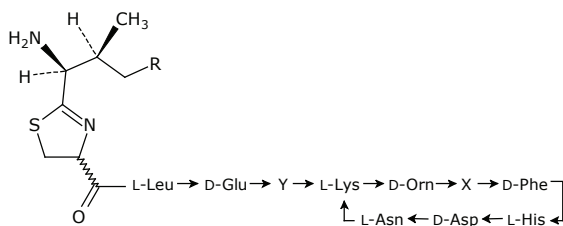
**Pirogen.** Memenuhi uji pirogen. Injek setiap kilogram dari berat kelinci 1 ml larutan supernatan yang diperoleh dengan sentrifus mengandung 11 mg setiap ml dalam natrium klorida (9 g/l).

**Penetapan potensi**

Lakukan penetapan potensi dengan metode berikut:

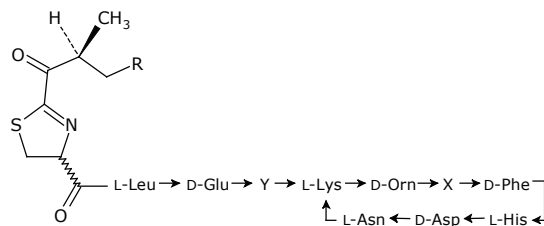
Suspensikan 50,0 mg dalam 5 ml air, tambahkan 0,5 ml asam hidroklorida encer dan encerkan sampai batas volume 100,0 ml dengan air. Diamkan selama 30 menit. Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

**Ketidakhmurnian**



- A. X = L-Val, Y = L-Ile, R = H: basitrasin C1.
- B. X = L-Ile, Y = L-Val, R = H: basitrasin C2.

- C. X = Y = L-Val, R = CH<sub>3</sub>: basitrasin C3.
- D. X = Y = L-Val, R = H: basitrasin E.



- E. X = Y = L-Ile, R = CH<sub>3</sub>: basitrasin F.
- F. X = Y = L-Ile, R = H: basitrasin H1.
- G. X = L-Val, Y = L-Ile, R = CH<sub>3</sub>: basitrasin H2.
- H. X = L-Ile, Y = L-Val, R = CH<sub>3</sub>: basitrasin H3.
- I. X = L-Val, Y = L-Ile, R = H: basitrasin I1.
- J. X = L-Ile, Y = L-Val, R = H: basitrasin I2.
- K. X = Y = L-Val, R = CH<sub>3</sub>: basitrasin I3.

**Penyimpanan**

Kedap udara, steril dan dilindungi dari cahaya.

**Khasiat**

Antibiotik.

**Basitrasin Serbuk Oral**

**Definisi**

Basitrasin serbuk oral mengandung basitrasin seng atau metilen disalisilat.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

Memenuhi uji identifikasi A, B dan C seperti yang tertera pada basitrasin seng.

**Basitrasin F dan senyawa sejenis.** Perbandingan serapan pada panjang gelombang 290 nm dan 252 nm dari larutan 0,03% b/v dalam asam sulfat 0,05 M, tidak lebih dari 0,15.

**Seng.** Larutkan 0,2 g dalam 5 ml asam asetat 1 M, tambah 50 ml air dan 50 mg xilenol jingga, campur. Tambah heksamin secukupnya sampai larutan berwarna merah. Tambah lagi 2 g heksamin dan titrasi menggunakan dinatrium edetat 0,01 M sampai warna berubah menjadi kuning. Setiap ml titran setara 0,6537 mg Zn. Seng berkisar antara 4—6% dihitung terhadap standar yang telah dikeringkan.

**Penetapan potensi/kadar**

Lakukan penetapan menurut cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup kedap dan terlindung dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Indikasi, 3) Kadaluwarsa 4) Kondisi penyimpanan.

## Benzalkonium Klorida

*Benzalkonium Chloride*

[8001-54-5]

### Definisi

Benzalkonium klorida adalah campuran alkilbenzildimetilamonium klorida, kelompok alkil mempunyai panjang rantai  $C_8$ — $C_{18}$ .

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 104,0% dari alkilbenzildimetilamonium klorida, dihitung sebagai  $C_{22}H_{40}ClN$  (BM: 354,0) dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau putih keuningan atau seperti gel, fragmen putih kekuningan, higroskopik.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air dan alkohol. Pada pemanasan menjadi cairan jernih.

### Identifikasi

- Serapan cahaya. Larutkan dan encerkan 80 mg dalam air sampai batas volume 100 ml. Periksa pada panjang gelombang 220 nm dan 350 nm, menunjukkan tiga serapan maksimum, pada panjang gelombang 257 nm, 263 nm dan 269 nm, dan bahu pada panjang gelombang 250 nm.
- Pada 2 ml larutan S. Tambah 0,1 ml asam asetat glasial, teteskan 1 ml natrium tetrafenilborat. Terbentuk endapan putih, saring. Larutkan endapan dalam campuran 1 ml aseton dan 5 ml alkohol, Panaskan pada suhu tidak lebih dari 70°C. Tambahkan air sampai terbentuk larutan opalesen. Panaskan perlahan lahan sampai larutan jernih dan dinginkan. Saring, bilas dengan tiga kali, masing-masing dengan 10 ml air dan keringkan dalam keadaan vakum di atas fosfor pentoksida atau silika gel anhidrat pada suhu tidak lebih 50°C. Suhu lebur 127°—133°C.
- Pada 5 ml larutan natrium hidroksida encer tambahkan 0,1 ml bromofenol biru dan 5 ml kloroform, kocok. Lapisan kloroform tidak berwarna. Tambah 0,1 ml larutan S dan aduk. Lapisan kloroform menjadi biru.
- Pada 2 ml larutan S, tambah 1 ml asam nitrat encer. Terbentuknya endapan putih, yang larut dengan penambahan 5 ml alkohol. Larutan memberikan reaksi klorida.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 100 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar  $Y_6$ .

**Keasaman-kebasaan.** Pada 50 ml larutan S tambahkan 0,1 ml larutan ungu bromokresol. Tidak lebih dari 0,1 ml asam hidroklorida 0,1 M atau natrium hidroksida 0,1 M diperlukan untuk mengubah warna indikator.

**Amina dan garam amina.** Larutkan 5,0 g dengan pemanasan dalam 20 ml campuran 3 volume asam hidroklorida 1 M dan 97 volume metanol, tambahkan 100 ml 2-propanol. Lewati dengan aliran nitrogen secara perlahan-lahan melalui larutan. Tambahkan 12,0 ml tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M dan catat kurva titrasi potensiometrik. Jika kurva menunjukkan dua titik infleksi, tambahkan volume titran antara dua titik tidak lebih besar dari 5,0 ml. Jika kurva menunjukkan tidak ada titik infleksi, zat uji tidak memenuhi syarat. Jika kurva menunjukkan satu titik infleksi, ulangi pengujian tetapi tambahkan 3,0 ml dimetildesilamin (25,0 g/l) dalam 2-propanol sebelum titrasi. Jika kurva titrasi setelah penambahan 12,0 ml titran membentuk satu titik infleksi, zat uji tidak memenuhi syarat.

**Air.** Tidak lebih dari 10%. Gunakan 0,3 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

### Penetapan kadar

Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air sampai batas volume 100,0 ml. Pada 25,0 ml larutan, tambah 25 ml kloroform, 10 ml natrium hidroksida 0,1 M dan 10 ml kalium iodida (50 g/l), aduk dan buang lapisan kloroform. Bilas lapisan air tiga kali, masing-masing dengan 10 ml kloroform dan buang lapisan kloroform. Pada fase air tambah 40 ml asam hidroklorida, dinginkan. Titrasi dengan kalium iodat 0,5 M sampai warna coklat tua. Tambahkan 2 ml kloroform dan lanjutkan titrasi sampai lapisan kloroform menjadi tidak berwarna. Lakukan titrasi blanko menggunakan campuran 10,0 ml kalium iodida (50 g/l), 20 ml air dan 40 ml asam hidroklorida. setiap ml kalium iodat 0,05 M setara dengan 35,4 mg  $C_{22}H_{40}ClN$ .

### Khasiat

Antiseptik.

## Benzalkonium Klorida Larutan

### Definisi

Benzalkonium larutan mengandung benzalkonium klorida dalam pembawa yang sesuai.

Larutan memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan larutan dan persyaratan berikut.

Mengandung benzalkonium klorida tidak kurang dari 90,0% b/v dan tidak lebih dari 110,0% b/v dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Karakteristik

Larutan jernih, tidak berwarna atau kekuningan, bercampur dengan air atau dengan alkohol.

### Identifikasi

- Serapan cahaya Larutkan dan encerkan 80 mg dalam air sampai batas volume 100 ml. Periksa pada panjang gelombang 220 nm dan 350 nm, menunjukkan tiga serapan maksimum, pada panjang gelombang 257 nm, 263 nm dan 269 nm, dan bahu pada panjang gelombang 250 nm.
- Pada 2 ml larutan S. Tambah 0,1 ml asam asetat

glasial, teteskan 1 ml natrium tetrafenilborat. Terbentuk endapan putih, saring. Larutkan endapan dalam campuran 1 ml aseton dan 5 ml alkohol. Panaskan pada suhu tidak lebih dari 70°C. Tambahkan air sampai terbentuk larutan opalesen. Panaskan perlahan lahan sampai larutan jernih dan dinginkan. Saring, bilas dengan tiga kali, masing-masing dengan 10 ml air dan keringkan dalam keadaan vakum di atas fosfor pentoksida atau silika gel anhidrat pada suhu tidak lebih 50°C. Suhu lebur 127°—133°C.

C. Pada 5 ml larutan natrium hidroksida encer tambahkan 0,1 ml bromofenol biru dan 5 ml kloroform, kocok. Lapisan kloroform tidak berwarna. Tambah 0,1 ml larutan S dan aduk. Lapisan kloroform menjadi biru.

D. Pada 2 ml larutan S, tambah 1 ml asam nitrat encer. Terbentuknya endapan putih, yang larut dengan penambahan 5 ml alkohol. Larutan memberikan reaksi klorida.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 100 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar Y<sub>6</sub>.

**Keasaman-kebasaan.** Pada 50 ml larutan S tambahkan 0,1 ml larutan ungu bromokresol. Tidak lebih dari 0,1 ml asam hidroklorida 0,1 M atau natrium hidroksida 0,1 M diperlukan untuk mengubah warna indikator.

**Amina dan garam amina.** Larutkan 5,0 g dengan pemanasan dalam 20 ml campuran 3 volume asam hidroklorida 1 M dan 97 volume metanol, tambahkan 100 ml 2-propanol. Lewati dengan aliran nitrogen secara perlahan-lahan melalui larutan. Tambahkan 12,0 ml tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M dan catat kurva titrasi potensiometrik. Jika kurva menunjukkan dua titik infleksi, tambahkan volume titran antara dua titik tidak lebih besar dari 5,0 ml. Jika kurva menunjukkan tidak ada titik infleksi, zat uji tidak memenuhi syarat. Jika kurva menunjukkan satu titik infleksi, ulangi pengujian tetapi tambahkan 3,0 ml dimetildesilamin (25,0 g/l) dalam 2-propanol sebelum titrasi. Jika kurva titrasi setelah penambahan 12,0 ml titran membentuk satu titik infleksi, zat uji tidak memenuhi syarat.

**Air.** Tidak lebih dari 10%. Gunakan 0,3 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air sampai batas volume 100,0 ml. Pada 25,0 ml larutan, tambah 25 ml kloroform, 10 ml natrium hidroksida 0,1 M dan a 10 ml kalium iodida (50 g/l), aduk dan buang lapisan kloroform. Bilas lapisan air tiga kali, masing-masing dengan 10 ml kloroform dan buang lapisan kloroform. Pada fase air tambah 40 ml asam hidroklorida, dinginkan. Titrasi dengan kalium iodat 0,5 M sampai warna coklat tua. Tambahkan 2 ml kloroform dan lanjutkan titrasi sampai lapisan kloroform menjadi tidak berwarna. Lakukan titrasi blanko menggunakan

campuran 10,0 ml kalium iodida (50 g/l), 20 ml air dan 40 ml asam hidroklorida. setiap ml kalium iodat 0,05 M setara dengan 35,4 mg C<sub>22</sub>H<sub>40</sub>ClN.

#### Penyimpanan

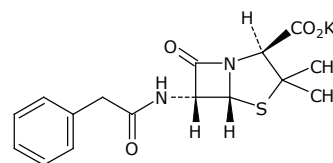
Dalam wadah tertutup, kedap dan terlindung dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) indikasi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

## Benzilpenisilin Kalium

*Benzylpenicillin Potassium*



C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>KN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S

BM: 372,5

[113-98-4]

#### Definisi

Benzilpenisilin kalium adalah kalium (2S,5R,6R)-3,3-dimetil-7-okso-6-[(fenilasetil)amino]-4-tia-1-azabisi-siklo[3.2.0]heptan-2-karboksilat, yang diproduksi oleh *Penicillium notatum* atau organisme sejenis, atau diperoleh dari yang lain.

Mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 102,0% dari benzilpenisilin kalium, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air, praktis tidak larut dalam minyak lemak dan dalam parafin cair.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, D.

Identifikasi kedua: B, C, D.

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar benzilpenisilin kalium.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan 25 mg zat uji dalam 5 ml air.

**Larutan standar (a).** Larutkan 25 mg standar benzilpenisilin kalium dalam 5 ml air.

**Larutan standar (b).** Larutkan 25 mg standar benzilpenisilin kalium dan 25 mg standar fenoksimetilpenisilin kalium dalam 5 ml air.

**Fase gerak.** Campur 30 volume aseton dan 70 volume amonium asetat (154 g/l), atur pH 5,0 dengan asam asetat glasial.

Totolkan secara terpisah 1 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara, semprot

dengan iodium sampai bercak muncul. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, warna dan ukuran dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

Uji tidak absah kecuali jika kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

C. Pada 2 mg tambah 0,05 ml air dan 2 ml asam sulfat-formaldehid. Aduk, larutan tidak berwarna. Panaskan diatas penangas air selama 1 menit, terbentuk warna coklat kemerahan.

D. Memberikan reaksi kalium.

**pH.** Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air bebas karbondioksida sampai volume 20 ml. pH 5,5—7,5.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah +270° sampai +300°, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Serapan cahaya.** Larutkan dan encerkan 94,0 mg dalam air sampai batas volume 50,0 ml. Periksa serapan pada panjang gelombang 325 nm, 280 nm dan pada panjang gelombang 264 nm. Encerkan larutan bila perlu, ukur serapan pada gelombang 264 nm. Serapan pada panjang gelombang 325 nm dan 280 nm tidak lebih 0,1. Serapan maksimum larutan (1,88 g/l) pada panjang gelombang 264 nm adalah 0,80—0,88 (1,88 g/l). Verifikasi resolusi dengan perbandingan serapan sedikitnya 1,7.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dalam penetapan potensi/kadar, dengan dengan cara:

**Injek.** 20 µl larutan standar (d) dan elusi secara isokratik.

**Injek.** 20 µl larutan uji (b) dan elusi secara isokratik. Setelah puncak benzilpenisilin terlihat, lakukan elusi dengan linier gradien berikut:

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)	Keterangan
0 – 20	70 → 0	30 → 100	Linier gradient
20 – 35	0	100	Isokratik
35 – 50	70	30	Re-ekuilibriasi

**Injek.** air dan gunakan pola elusi yang sama. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b), area puncak lain, yang merupakan bagian dari puncak utama, tidak lebih besar dari area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (d) (1%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0% pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Endotoksin bakteri.** Kurang dari 0,16 IU/mg.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

2. Dengan metode kromatografi cair, menggunakan: Siapkan larutan dengan segera sebelum menggunakan.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 50,0 mg zat uji dalam air sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan dan encerkan 80,0 mg zat uji dalam air sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 50,0 mg standar natrium benzilpenisilin dalam air sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar natrium benzilpenisilin dan 10 mg asam fenilasetat dalam air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dengan air sampai volume 20,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan air sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (d).** Encerkan 4,0 ml larutan standar (a) dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5 µm, ukuran 0,25 m x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Fase gerak A.** Campuran 10 volume kalium dihidrogen fosfat (68 g/l, atur pH 3,5 dengan asam fosfat encer 500 g/l), 30 volume metanol R dan 60 volume air.

**Fase gerak B.** Campuran 10 volume kalium dihidrogen fosfat (68 g/l, atur pH 3,5 dengan asam fosfat encer 500 g/l), 40 volume air R dan 50 volume metanol.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 225 nm.

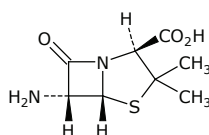
Ekuilibrasikan kolom dengan perbandingan fase gerak A:B (70:30). Injek 20 µl larutan standar (b).

Uji tidak absah kecuali jika resolusi antara 2 puncak utama sedikitnya 6,0 (bila perlu, lakukan penyesuaian perbandingan fase gerak A:B) dan perbandingan puncak kedua (benzilpenisilin) 4,0—6,0. Injek 20 µl larutan standar (c). Atur puncak dengan signal-to-noise sedikitnya 3. Hitung % benzilpenisilin kalium dengan mengalikan % benzilpenisilin natrium dengan 1,045.

#### Penyimpanan

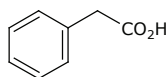
Kedap udara, steril, dan dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakhurnian

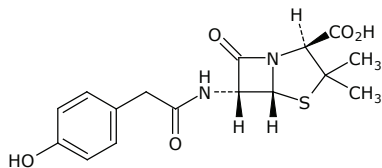


A. Asam (2S,5R,6R)-6-amino-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat (asam 6-aminopenisilinat).

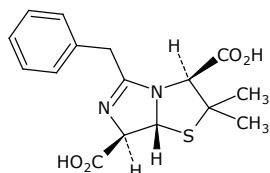




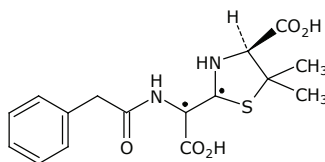
## B. Asam fenilasetat.



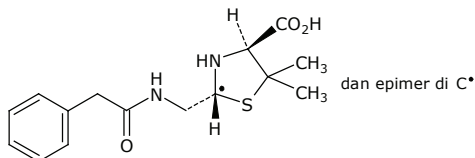
## C. Asam (2S,5R,6R)-6-[[4-hidroksifenil]asetil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat.



## D. Asam (3S,7R,7aR)-5-benzil-2,2-dimetil-2,3,7,7a-tetrahidroimidazo[5,1-b]tiazol-3,7-dikarboksilat (asam penisiloat dari benzilpenisilin).



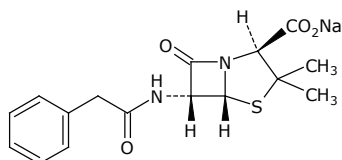
## E. Asam (4S)-2-[karboksi((fenilasetil)amino)metil]-5,5-dimetiltiazolidina-4-karboksilat (asam penisiloat dari benzilpenisilin).



## F. Asam (2RS,4S)-2-[[fenilasetil]amino]metil]-5,5-dimetiltiazolidina-4-karboksilat (asam penisiloat dari benzilpenisilin).

**Khasiat**

Antibiotik.

**Benzilpenisilin Natrium***Benzylpenicillin Sodium* $C_{16}H_{17}N_2NaO_4S$ 

BM: 356,4

[69-57-8]

**Definisi**

Benzilpenisilin natrium adalah natrium (2S, 5R,6R)-3,3-dimetil-7-okso-6-[(fenilasetil)amino]-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptan-2-karboksilat, yang diproduksi oleh pertumbuhan *Penicillium notatum* atau organisme

sejenis, atau diperoleh dari yang lain.

Mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 102,0% dari benzilpenisilin natrium, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air, praktis tidak larut dalam minyak lemak dan dalam parafin cair.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: A, D.

Identifikasi kedua: B, C, D.

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar benzilpenisilin natrium.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel.

**Larutan uji.** Larutkan 25 mg zat uji dalam 5 ml air.

**Larutan standar (a).** Larutkan 25 mg standar benzilpenisilin natrium dalam 5 ml air.

**Larutan standar (b).** Larutkan 25 mg standar benzilpenisilin natrium dan 25 mg standar fenoksi-metilpenisilin kalium dalam 5 ml air.

**Fase gerak.** Campuran 30 volume aseton dan 70 volume amonium asetat (154 g/l), atur pH 5,0 dengan asam asetat glasial.

Totolkan pada lempeng 1  $\mu$ l dari setiap larutan.

Keringkan di udara dan semprot dengan iodiuin sampai bercak muncul. Uji dilakukan siang hari. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

Uji tidak absah kecuali jika kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

C. Pada 2 mg tambah 0,05 ml air dan 2 ml asam sulfat-formaldehid. Aduk, larutan tidak berwarna. Tempatkan tabung reaksi di atas penangas air selama 1 menit, terbentuk satu warna coklat kemerahan.

D. Memberikan reaksi natrium.

**pH.** Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air bebas karbondioksida sampai volume 20 ml. pH 5,5–7,5.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah  $+285^\circ$  sampai  $+310^\circ$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Serapan cahaya.** Larutkan dan encerkan 90,0 mg dalam air sampai batas volume 50,0 ml. Periksa serapan larutan pada panjang gelombang 325 nm, 280 nm dan serapan maksimum pada panjang gelombang 264 nm, encerkan larutan bila perlu, untuk pengukuran pada panjang gelombang 264 nm. Serapan pada panjang gelombang 325 nm dan 280 nm tidak lebih 0,1. Serapan maksimum larutan (1,88 g/l) pada panjang gelombang

264 nm adalah 0,80—0,88 (1,88 g/l). Verifikasi resolusi dengan perbandingan serapan sedikitnya 1,7.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dalam penetapan potensi/kadar.

**Injek.** 20 µl larutan standar (d) dan elusikan secara isokratik dengan fase gerak yang dipilih.

**Injek.** 20 µl larutan uji (b) dan mulai elusi secara isokratik. Dengan segera setelah terelusi puncak benzilpenisilin lakukan elusi linier gradien berikut:

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)	Keterangan
0—20	70 → 0	30 → 100	Linier gradien
20—35	0	100	Isokratik
35—50	70	30	Re-ekuilibrasasi

**Injek.** air dan gunakan pola elusi yang sama untuk memperoleh blanko. pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b), area puncak lain, bukan dari puncak utama, tidak lebih besar dari area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (d) (1%).

**Asam 2-etilheksanoat.** Tidak lebih dari 0,5% b/b.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0% pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Endotoksin bakteri.** Kurang dari 0,16 IU/mg.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan: (Siapkan larutan dengan segera sebelum menggunakan)

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 50,0 mg zat uji dalam air sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan dan encerkan 80,0 mg zat uji dalam air sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 50,0 mg standar benzilpenisilin natrium dalam air sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar benzilpenisilin natrium dan 10 mg asam fenilasetat dalam air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dengan air sampai volume 20,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan air sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (d).** Encerkan 4,0 ml larutan standar (a) dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5 µm, ukuran 0,25 m x 4,6 mm.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Fase gerak A.** Campuran 10 volume kalium dihidrogen fosfat (68 g/l, atur pH 3,5 dengan asam fosfat encer 500 g/l), 30 volume metanol R dan 60 volume air.

**Fase gerak B.** Campuran 10 volume kalium dihidrogen fosfat (68 g/l, atur pH 3,5 dengan asam fosfat encer 500 g/l), 40 volume air R dan 50 volume metanol.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 225 nm.

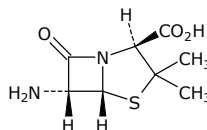
Ekuilibrasikan kolom dengan perbandingan fase gerak A:B (70:30). Injek 20 µl larutan standar (b).

Uji tidak absah kecuali jika resolusi antara 2 puncak utama sedikitnya 6,0 (bila perlu, lakukan penyesuaian perbandingan fase gerak A:B) dan perbandingan puncak kedua (benzilpenisilin) 4,0—6,0. Injek 20 µl larutan standar (c). Perbandingan antara puncak dengan pengganggu adalah 3,0.

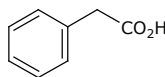
#### Penyimpanan

Kedap udara, steril, dan dilindungi dari cahaya.

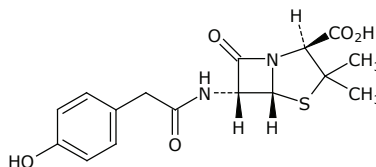
#### Ketidakhurnian



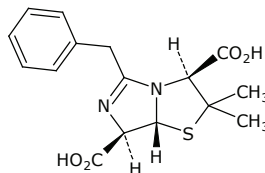
- A. Asam (2S,5R,6R)-6-amino-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat (asam 6-aminopenisilanat).



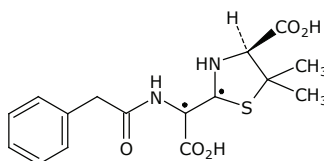
- B. Asam fenilasetat.



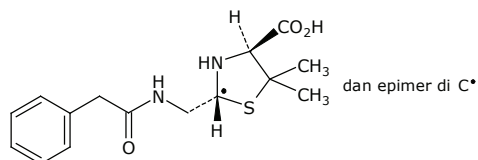
- C. Asam (2S,5R,6R)-6-[[[4-hidroksifenil]asetil] amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat.



- D. Asam (3S,7R,7aR)-5-benzil-2,2-dimetil-2,3,7,7a-tetrahydroimidazo[5,1-b]tiazol-3,7-dikarboksilat (asam penisilat dari benzilpenisilin).



- E. Asam (4S)-2-[karboksi[(fenilasetil)amino]metil]-5,5-dimetiltiazolidina-4-karboksilat (asam penisilat dari benzilpenisilin).



F. Asam (2RS,4S)-2-[[[(fenilasetil)amino]metil]-5,5-dimetiltiazolidina-4-karboksilat (asam penisiloat dari benzilpenisilin).

### Khasiat

Antibiotik.

## Benzilpenisilin Injeksi

### Definisi

Benzilpenisilin injeksi adalah larutan steril benzilpenisilin kalium atau natrium dalam air untuk injeksi atau pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% penisilin dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar benzilpenisilin kalium atau natrium.
- Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel xilanisasi atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 30 volume aseton dan 70 volume dari amonium asetat b/v 15,4%. Atur pH 5,0 dengan asam asetat glasial.

**Larutan (1).** Benzilpenisilin 0,5% b/v dalam air.

**Larutan (2).** Standar benzilpenisilin natrium 0,5% b/v dalam air atau benzilpenisilin kalium dalam air 0,5% b/v.

**Larutan (3).** Standar benzilpenisilin natrium 0,5% b/v dalam air atau benzilpenisilin kalium dalam air 0,5% b/v dan fenoksimetilpenisilin kalium 0,5% b/v.

Totolkan 1 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan diudara, semprot dengan iodium sampai bercak tampak. Puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan (1) sesuai pada tempat, warna dan ukuran dengan bercak yang diperoleh larutan (2).

Uji tidak absah jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

- Memberikan reaksi A dari garam kalium atau garam natrium.

**Keasaman-kebasaan.** Larutan 10% b/v, pH 5,5—7,5.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, seperti yang tertera pada benzilpenisilin kalium atau natrium, menggunakan:

**Larutan (1).** Larutkan (sediaan setara 80 mg benzil-

penisilin dalam 20 ml air dan saring.

**Larutan (2).** Standar benzilpenisilin natrium 0,0040% b/v dalam air.

**Injek.** 20 µl larutan (2) dan elusi secara isokratik dengan campuran 70 volume dari fase gerak A dan 30 volume dari fase gerak B.

**Injek.** 20 µl larutan (1) dan elusi secara isokratik dengan campuran 70 volume dari fase gerak A dan 30 volume dari fase gerak B. Setelah puncak benzilpenisilin terelusi, lakukan dengan linier gradien.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)	Keterangan
0—20	70 → 0	30 → 100	Gradien linier
20—35	0	100	Isokratik
35—50	70	30	Ekulibrasi ulang

**Injek.** Air dan gunakan elusi yang sama. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1), area dari puncak kedua tidak lebih besar dari area puncak utama yang diperoleh dengan larutan (2) (1%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1%. Lakukan pengeringan pada suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Pirogen.** Memenuhi syarat uji pirogen, menggunakan 1,5 mg/kg bb kelinci.

### Penetapan kadar/potensi

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
- Dengan metode kromatografi cair, menggunakan: Siapkan larutan dengan segera sebelum menggunakan.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 50,0 mg zat uji dalam air sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan dan encerkan 80,0 mg zat uji dalam air sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 50,0 mg standar benzilpenisilin natrium dalam air sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar benzilpenisilin natrium dan 10 mg asam fenilasetat dalam air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dengan air sampai volume 20,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan air sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (d).** Encerkan 4,0 ml larutan standar (a) dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5 µm, ukuran 0,25 m x 4,6 mm atau yang sesuai

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Fase gerak A.** Campuran 10 volume kalium dihidrogen fosfat (68 g/l, atur pH 3,5 dengan asam

fosfat encer 500 g/l), 30 volume metanol R dan 60 volume air.

**Fase gerak B.** Campuran 10 volume kalium dihidrogen fosfat (68 g/l, atur pH 3,5 dengan asam fosfat encer 500 g/l), 40 volume air R dan 50 volume metanol.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 225 nm.

Ekuilibrasikan kolom dengan perbandingan fase gerak A:B (70:30). Injek 20 µl larutan standar (b).

Uji tidak absah kecuali jika resolusi antara 2 puncak utama sedikitnya 6,0 (bila perlu, lakukan penyesuaian perbandingan fase gerak A:B) dan perbandingan puncak kedua (benzilpenisilin) 4,0—6,0. Injek 20 µl larutan standar (c). Atur puncak dengan *signal-to-noise* sedikitnya 3. Hitung % benzilpenisilin kalium dengan mengalikan % benzilpenisilin natrium dengan 1,045.

### Penyimpanan

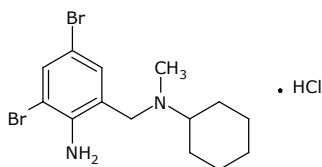
Kedap udara, steril, dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Untuk injeksi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

## Bromheksin Hidroklorida

*Bromhexine Hydrochloride*



$C_{14}H_{20}Br_2N_2 \cdot HCl$

BM: 412,6

[611-75-6]

### Definisi

Bromheksin hidroklorida adalah N-(2-amino-3,5-dibromobenzil)-N-metilsiklo heksanamin hidroklorida.

Mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,5% dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, sukar larut dalam alkohol dan dalam metilen klorida. Terlihat polimorfism.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, E.

Identifikasi kedua: B, C, D, E.

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar bromheksin hidroklorida. Jika spektrum berbeda, larutkan zat uji dan zat standar secara terpisah dalam metanol, uapkan hingga kering periksa kembali spektrum yang dihasilkan dari residu.

B. Lakukan dengan kromatografi lapis tipis.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 20 mg zat uji dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 20 mg standar bromheksin hidroklorida dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Lempeng.** Silika F254 atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur asam asetat glasial, air, butanol (17:17:66 v/v/v).

Totolkan secara terpisah 20 µl larutan uji dan larutan standar. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet pada 254 nm. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat dan ukuran dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar.

C. Larutkan sekitar 25 mg dalam 1 ml asam sulfat encer dan 50 ml air. Tambah 2 ml metilen klorida dan 5 ml larutan kloramin, aduk. Akan terbentuk warna kuning kecoklatan di lapisan bawah.

D. Larutkan 1 mg dalam 3 ml asam hidroklorida 0,1 M. Larutan memberikan reaksi amina aromatik primer

E. Larutkan 20 mg dalam 1 ml metanol dan tambahkan 1 ml air. Larutan memberikan reaksi klorida.

**Kejernihan larutan.** Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan dengan larutan standar  $Y_6$ . Larutkan 0,6 g dalam metanol dan encerkan sampai batas volume 20 ml dengan pelarut sama.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 50 mg dan encerkan zat uji dalam metanol sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Pada 5 mg standar ketidakhurnian C, tambah 1,0 ml larutan uji dan encerkan dengan metanol sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dalam metanol sampai batas volume 100,0 ml. Pada 1,0 ml encerkan dalam metanol sampai batas volume 10,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 3 µm berukuran 0,12 m x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 20 volume larutan (campuran 0,50 ml asam fosfat dalam 950 ml air, atur pH 7,0 dengan trietilamin dan encerkan dengan sampai batas volume 1000 ml) dan 80 volume asetonitril.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 248 nm.

**Injek.** 10 µl.

**Waktu uji.** 2,5 kali waktu tambat bromheksin. Waktu tambat relatif bromheksin sekitar 11 menit; ketidakhurnian A sekitar 0,1; ketidakhurnian B sekitar 0,2; ketidakhurnian C sekitar 0,4; ketidakhurnian D sekitar 0,5.

### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (a).** Resolusi minimum antara puncak ketidakhurnian C dan bromheksin adalah 12,0.

**Batas**

**Ketidakhurnian.** Tidak lebih dari 2 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,2%), dan tidak lebih dari 1 puncak mempunyai area lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,1%).

**Total.** Tidak lebih dari 3 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,3%).

**Abaikan batas.** 0,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0% pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

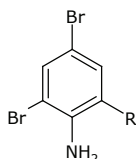
**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1 g.

**Penetapan kadar**

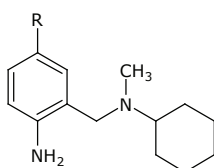
Larutkan 0,3 g dengan 70 ml alkohol dan tambah 1 ml asam hidroklorida 0,1 M. Lakukan titrasi potensiometri, menggunakan natrium hidroksida 0,1 M. Ukur volume antara 2 titik infleksi. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 41,26 mg.  $C_{14}H_{20}Br_2N_2 \cdot HCl$ .

**Penyimpanan**

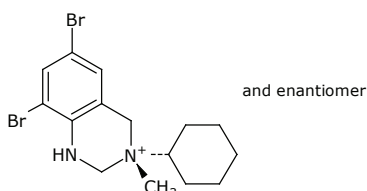
Dilindungi dari cahaya.

**Ketidakhurnian**

- A. R =  $CH_2OH$ : (2-amino-3,5-dibromofenil) metanol.  
B. R =  $CHO$ : 2-amino-3,5-dibromobenzaldehida.



- C. R = H: N-(2-aminobenzil)-N-metilsiklo heksanamina.  
D. R = Br: N-(2-amino-5-bromobenzil)-N-metilsiklo heksanamina.



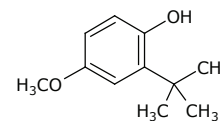
- E. (3RS)-6,8-dibromo-3-sikloheksil-3-metil-1,2,3,4-tetrahidrokuinazolin-3-ium.

**Khasiat**

Ekspektoran.

**Butilhidroksianisol**

*Butylhydroxyanisole*



$C_{11}H_{16}O_2$

BM: 180,3

[25013-16-5]

**Definisi**

Butilhidroksianisol adalah 2-(1,1-dimetiletil)-4-metoksifenol.

Mengandung tidak lebih dari 10% dari 3-(1,1-dimetiletil)-4-metoksifenol.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih, kekuning-kuningan atau sedikit kemerah-merahan.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut di dalam air, sangat mudah larut di dalam metilen klorida, mudah larut dalam alkohol dan minyak lemak. Larut dalam larutan alkali hidroksida encer.

**Identifikasi**

- A. Kromatogram yang diperoleh dalam uji senyawa sejenis. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b).  
B. Kedalam 0,5 ml larutan S, tambah 0 ml larutan aminopirazolon dan 1 ml larutan kalium ferri-sianida. Aduk dan tambahkan 10 ml metilen klorida. Kocok dengan kuat. Setelah pemisahan, lapisan organik terlihat merah.  
C. Larutkan 10 mg dalam 2 ml alkohol. Tambahkan 1 ml larutan testosteron propionat (1 g/l di dalam alkohol) dan 2 ml larutan natrium hidroksida encer. Panaskan pada suhu 80°C selama 10 menit, akan terbentuk warna merah.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam alkohol sampai batas volume 25 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S adalah jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan intensitas 5 larutan standar dari warna yang paling sesuai.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika G.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,25 g zat uji didalam metilen klorida sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dalam metilen klorida sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 25 mg standar butilhidroksianisol dalam metilen klorid sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1 ml larutan standar (a) dalam metilen klorida sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan 50 mg hidrokuinon dalam 5 ml alkohol dan encerkan dalam metilen klorida sampai batas volume 100 ml. Pada 1 ml, encerkan dalam metilen klorida sampai volume 10 ml.

Totolkan secara terpisah 5 µl dari setiap larutan. Kembangkan dengan metilen klorida. Angkat lempeng, keringkan di udara dan semprot dengan larutan segar yang dibuat dari campuran 10 volume kalium besi (II) sianida, 20 volume larutan besi (III) klorida dan 70 volume air.

Kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a): Bercak violet-biru dengan nilai R<sub>f</sub> sekitar 0,35 sesuai dengan 3-(1,1-dimetiletil)-4-metoksifenol tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak utama yang di peroleh dengan larutan standar (a) (10%); Bercak yang sesuai dengan hidrokuinon tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,2%); Bercak yang sesuai dengan 3-(1,1-dimetiletil)-4-metoksifenol dan hidrokuinon tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

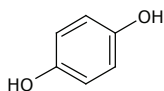
**Logam berat.** 1,0 g memenuhi uji batas C untuk logam berat (10 ppm). Gunakan 1 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakhurnian



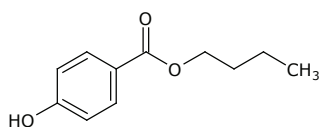
Benzena-1,4-diol (hidrokuinon).

#### Khasiat

Antioksidan.

## Butil Hidroksibenzoat

*Butyl Parahydroxybenzoate*



C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>

BM: 194,2

[94-26-8]

#### Definisi

Butil hidroksibenzoat adalah butil 4-hidroksibenzoat.

Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal berwarna putih, atau hampir putih pucat.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut di dalam air, mudah larut di dalam alkohol dan metanol.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: A, C, D.

A. Suhu lebur 68°—71°C.

B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar butil parahidroksibenzoat.

C. Pada kromatogram yang diperoleh dari uji senyawa sejenis, bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sama pada tempat dan ukuran dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b).

D. Pada 10 mg zat uji dalam tabung, tambah 1 ml larutan natrium karbonat, dididihkan selama 30 detik dan dinginkan (larutan A).

Pada 10 mg zat uji dalam tabung yang kedua, tambah 1 ml natrium karbonat; sebagian zat larut (larutan B).

Pada saat bersamaan pada larutan A dan larutan B, tambahkan 5 ml aminopirazonol serta 1 ml larutan kalium besisianida dan aduk.

Larutan B berwarna kuning jingga-kecoklatan. Larutan A berwarna jingga-kemerahan yang jernih, dan lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan yang didapat dengan larutan B.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam alkohol sampai batas volume 10 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar BY<sub>6</sub>.

**Keasaman.** Pada 2 ml larutan S, tambah 3 ml alkohol, 5 ml air bebas karbondioksida dan 0,1 ml bromokresol hijau. Tidak lebih dari 0,1 ml natrium hidroksida 0,1 M diperlukan untuk mengubah warna menjadi biru.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,10 g zat uji dalam aseton sampai batas volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dalam aseton sampai batas volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 0,5 ml larutan uji (a) dalam aseton sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar butil parahidroksibenzoat dalam aseton sampai batas volume 10 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan 10 mg propil parahidroksibenzoat dalam 1 ml larutan uji (a) dan encerkan dalam aseton sampai batas volume 10 ml.

**Lempeng.** Oktadesilsilik silika dengan indikator fluoresen yang mempunyai intensitas optimal pada panjang gelombang 254 nm.

**Fase gerak.** Campuran asam asetat glasial, air, metanol (1:30:70 v/v/v).

Totolkan 2 µl. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Pemeriksaan dengan cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm.

**Kesesuaian sistem.** Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) menunjukkan dua bercak utama yang terpisah.

**Batas**

**Ketidakhurnian.** Bercak yang diperoleh dengan larutan uji (a), yang merupakan bagian dari bercak utama, tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,5%)

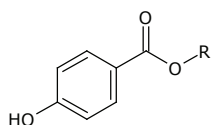
**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

**Penetapan kadar**

Pada 1,0 g, tambah 20,0 ml natrium hidroksida 1 M. Panaskan pada suhu 70°C selama 1 jam. Dinginkan dengan segera dalam es. Titrasi pada kondisi suhu ruang.

Titrasi kelebihan natrium hidroksida dengan asam sulfat 0,5 M, lanjutkan titrasi sampai diperoleh titik akhir antara kedua titik infleksi dan tentukan titik akhir secara potensiometrik. Lakukan titrasi blanko.

Setiap ml natrium hidroksida 1 M setara dengan 194,2 mg  $C_{11}H_{14}O_3$ .

**Ketidakhurnian**

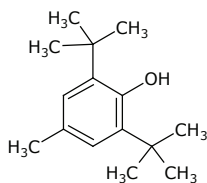
- A. R = H: asam 4-hidroksibenzoat.  
 B. R = CH<sub>3</sub>: metil 4-hidroksibenzoat.  
 C. R = CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>: etil 4-hidroksibenzoat.  
 D. R = CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>: propil 4-hidroksibenzoat.

**Khasiat**

Bahan pembantu

**Butilhidroksitoluen**

*Butylhydroxytoluene*



$C_{15}H_{24}O$

BM: 220,4

[128-37-0]

**Definisi**

Butilhidroksitoluen adalah 2,6-bis(1,1-dimetil etil)-4-metilfenol.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih, kekuning-kuningan.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut di dalam air, sangat mudah larut dalam metilen klorida, mudah larut dalam alkohol dan minyak lemak. Larut dalam larutan alkali hidroksida encer.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: A, C.

Identifikasi kedua: A, B, D.

A. Memenuhi uji untuk suhu beku.

B. Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam etanol sampai batas volume 100 ml. Encerkan 1 ml dalam etanol sampai batas volume 100 ml. Periksa pada panjang gelombang 230 nm dan 300 nm.

Serapan maksimum pada panjang gelombang 278 nm. Serapan spesifik maksimum pada panjang gelombang adalah 80—90 nm.

C. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar butilhidroksitoluen.

D. Larutkan 10 mg dalam 2 ml alkohol. Tambahkan 1 ml larutan testosteron propionat (1 g/l dalam alkohol) dan 2 ml dari natrium hidroksida encer. Panaskan pada suhu 80°C selama 10 menit dinginkan, akan terbentuk warna biru.

**Kejernihan larutan.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam metanol sampai batas volume 10 ml. Larutan sangat jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar Y<sub>5</sub> atau BY<sub>5</sub>.

**Suhu beku.** 69°—70°C.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,2 g zat uji dalam metanol sampai batas volume 10,0 ml.

**Larutan standar.** Encerkan 1 ml larutan uji dalam metanol sampai batas volume 200 ml.

**Fase gerak.** Metilen klorida.

Totolkan secara terpisah, 10 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng, keringkan di udara dan semprot dengan campuran larutan segar 10 volume kalium besi (II) sianida, 20 volume larutan besi (III) klorida dan 70 volume air.

Bercak yang diperoleh dengan larutan uji, merupakan bagian dari bercak utama, tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (0,5%).

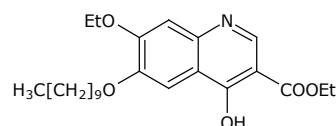
**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

**Khasiat**

Antioksidan.

**Dekokuinat**

*Decoquinat*



$C_{24}H_{35}NO_5$

BM: 417,6

[18507-89-6]

**Definisi**

Dekokuinat adalah etil 6-deksiloksi-7-etoksi-4-hidroksikuinolin-3-karboksilat.

Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari  $C_{24}H_{35}NO_5$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk mikrokristal krem, tidak berbau.

**Kelarutan.** Tidak larut dalam air, sangat sukar larut dalam kloroform dan eter, praktis tidak larut dalam etanol (96%).

**Identifikasi**

- A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar dekokuinat.
- B. Serapan cahaya, pada panjang gelombang antara 230—350 nm dari larutan yang digunakan untuk uji serapan cahaya menunjukkan maksimum hanya pada 265 nm.

**Serapan cahaya.** Larutkan 40 mg dalam 10 ml kloroform panas dan biarkan larutan hangat, encerkan dengan 70 ml etanol absolut. Dinginkan dan encerkan dengan etanol absolut sampai batas volume 100 ml. Encerkan 10 ml dengan etanol absolut sampai batas volume 100 ml. Pada 10 ml larutan, tambah 10 ml asam hidroklorida 0,1 M dan encerkan dengan etanol absolut sampai batas volume 100 ml. Serapan maksimum pada panjang gelombang 265 nm adalah 0,38—0,42, dihitung dengan standar kering.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel 60 F<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 5 volume asam format anhidrat, 10 volume etanol absolut dan 85 volume kloroform.

**Larutan (1).** Zat uji 1,0% b/v dalam kloroform panas.

**Larutan (2).** Standar dietil 4-desiloksi-3-etoksianilinometilenemalonat 0,0050% b/v dalam kloroform.

**Larutan (3).** Zat uji 0,010% b/v dalam kloroform.

Totolkan 10 µl dari setiap larutan, angkat lempeng dan keringkan diudara. Periksa dengan sinar ultraviolet (254 nm). Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) bercak dietil 4-desiloksi-3-etoksianilinometilenemalonat tidak lebih kuat intensitasnya dari bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (0,5%) dan bercak kedua tidak lebih kuat intensitasnya dari bercak yang diperoleh dengan larutan (3) (1%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%, gunakan 1,0 g dengan pemanasan 105°C sampai bobot tetap.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.

**Penetapan kadar**

Larutkan 1,0 g dalam campuran 50 ml kloroform dan 50 ml asam asetat anhidrat. Lakukan titrasi bebas air dengan kristal violet sebagai indikator. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 41,76 mg of C<sub>24</sub>H<sub>35</sub>NO<sub>5</sub>.

**Khasiat**

Antiprotozoa.

**Dekokuinat Serbuk Oral****Definisi**

Dekokuinat serbuk oral mengandung dekokuinat.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan

untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut: Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Campuran 70 volume kloroform dan 30 volume etanol (96%).

**Larutan (1).** Sediaan setara 0,1 g dekokuinat dilarutkan dalam 40 ml kloroform kemudian dipanaskan diatas penangas air menggunakan refluks kondensor selama 20 menit, dinginkan dan saring.

**Larutan (2).** Standar dekokuinat dalam kloroform 0,25% b/v.

Totolkan secara terpisah 10 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dibawah ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm. Bercak yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan bercak pada larutan (2).

**Penetapan kadar**

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan: Pada sediaan setara 0,2 g dekokuinat, tambah 50 ml kloroform hangat. Dinginkan dan tambah kloroform sampai batas volume 100 ml. Encerkan 5 ml dengan asam klorida 0,01 M dalam etanol sampai batas volume 100 ml. Pada 5 ml larutan, encerkan dengan asam klorida 0,01 M dalam etanol sampai batas volume 100 ml.

Ukur serapan pada panjang gelombang 265 nm.

**Penyimpanan**

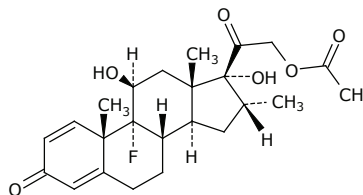
Dalam wadah tertutup kedap dan terlindung dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) indikasi, 3) Kadaluwarsa 4) Kondisi penyimpanan.

**Deksametason Asetat**

*Dexamethasone Acetate*



C<sub>24</sub>H<sub>31</sub>FO<sub>6</sub>

BM: 434,5

[55812-90-3]

**Definisi**

Deksametason asetat mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0% dari 9-fluoro-11β,17-dihidroksi-16α-metil-3,20-dioksopregna-1,4-dien-21-il asetat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.



**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau yang hampir putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam aseton dan alkohol, sukar larut dalam metilen klorida. Deksametason asetat terlihat polimorfism.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: B, C.

Identifikasi kedua: A, C, D, E, F.

- A. Larutkan dan encerkan 10,0 mg dalam etanol sampai batas volume 100,0 ml. Pada 2,0 ml larutan, tambah 10,0 ml asam sulfat-fenilhidrazin, aduk dan panaskan dalam penangas air pada suhu 60°C selama 20 menit dan dinginkan. Serapan maksimum larutan pada panjang gelombang 419 nm tidak kurang dari 0,35.
- B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar deksametason asetat. Jika spektrum yang diperoleh dengan zat uji dan zat standar dalam bentuk padat memperlihatkan perbedaan, gunakan larutan pekat (sekitar 30 g/l) zat uji dan zat standar dalam kloroform.
- C. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel dengan indikator fluoresensi (254 nm).

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 10 mg zat uji dalam campuran 1 volume metanol dan 9 volume metilen klorida.

**Larutan standar (a).** Larutkan 20 mg standar deksametason asetat dalam campuran 1 volume metanol dan 9 volume metilen klorida sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10 mg kortison asetat dalam larutan standar (a) sampai volume 10 ml.

**Fase gerak.** Tambahkan campuran 1,2 volume air dan 8 volume metanol pada campuran 15 volume eter dan 77 volume metilen klorida.

Totolkan 5 µl secara terpisah dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat dan ukuran dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a). Semprot dengan larutan asam sulfat-alkohol. Panaskan pada suhu 120°C selama 10 menit atau sampai bercak nampak, dinginkan. Periksa pada cahaya ultraviolet (365 nm).

Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat dan warna. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) terlihat berfluoresensi pada cahaya ultraviolet (365 nm).

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

D. Tambahkan 2 mg pada 2 ml asam sulfat dan kocok. Dalam 5 menit, warna coklat kemerahan. Tambahkan larutan pada 10 ml air dan aduk, akan menjadi tidak berwarna dan jernih.

E. Campur 5 mg dengan 45 mg magnesium oksida dan pijarkan dalam cawan porselen sampai diperoleh residu putih (5 menit), dinginkan, tambah 1 ml air, 0,05 ml larutan fenoltalein dan 1 ml asam hidroklorida encer sampai larutan tidak berwarna, saring. Pada 1,0 ml hasil saringan, tambah 0,1 ml larutan alizarin S dan 0,1 ml zirkonil nitrat, aduk dan diamkan selama 5 menit. Bandingkan warna larutan dengan blanko. Larutan uji kuning dan blanko merah.

F. Pada 10 mg memberikan reaksi asetil.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam dioksan sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah +84° sampai +90°, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 25,0 mg zat uji dalam 4 ml asetonitril dan encerkan dengan air sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 2 mg standar deksametason asetat dan 2 mg standar betametason asetat dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5 µm, ukuran 0,25 m x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Fase gerak.** Campur 380 ml asetonitril dengan 550 ml air dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml dan aduk.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Ekuilibrasi kolom dengan fase gerak pada laju alir 1 ml/menit selama 30 menit.

Lakukan kesesuaian sistem sehingga tinggi puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan 20 µl larutan standar (b) tidak kurang dari 50% dari skala-penuh.

**Injek.** 20 µl larutan standar (a). Waktu tambat betametason asetat, sekitar 19 menit dan deksametason asetat sekitar 22 menit. Uji tidak absah kecuali jika, resolusi antara puncak betametason asetat dan deksametason asetat adalah 3,3, jika perlu, lakukan penyesuaian konsentrasi asetonitril pada fase gerak.

**Injek.** 20 µl larutan uji dan 20 µl larutan standar (b). Lanjutkan kromatografi 1,5 kali waktu tambat puncak utama. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, area puncak, selain puncak utama, tidak lebih besar dari setengah area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%). Jumlah

area dari semua puncak tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,0%). Abaikan puncak dengan area kurang dari 0,05 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5% pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 0,5 g.

#### Penetapan kadar

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan: Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam alkohol sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 2,0 ml dengan alkohol sampai batas volume 100,0 ml. Ukur serapan pada panjang gelombang maksimum.
- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campuran air dan asetonitril (3:2).

**Larutan standar.** Timbang standar deksametason asetat, larutkan dalam asetonitril sampai 0,3 mg/ml.

**Larutan uji.** Timbang 30 mg zat uji, larutkan dan encerkan dengan asetonitril sampai batas volume 100 ml.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Kolom.** Oktadesilsilil, 4 mm x 25 cm.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Injek.** 20 µl larutan uji dan standar.

#### Penyimpanan

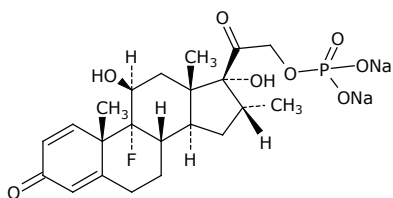
Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Kortikosteroid.

## Deksametason Natrium Fosfat

*Dexamethasone Sodium Phosphate*



$C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$

BM: 516,4

[2392-39-4]

#### Definisi

Deksametason natrium fosfat mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0% dari 9-fluoro-11β,17-dihidroksi-16α-metil-3,20-dioksopregna-1,4-dien-21-il dinatrium fosfat, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau yang hampir putih, sangat higroskopik.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, sukar larut dalam alkohol, praktis tidak larut dalam metilen klorida. Deksametason natrium fosfat terlihat polimorfism.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: B, C.

Identifikasi kedua: A, C, D, E, F.

- Larutkan 10,0 mg dalam air dan encerkan dengan etanol sampai batas volume 100,0 ml. Pada 2,0 ml larutan dalam tabung, tambahkan 10,0 ml asam sulfat-fenilhidrazin, aduk dan panaskan dalam penangas air pada suhu 60°C selama 20 min. Dinginkan dengan segera. Serapan maksimum larutan pada panjang gelombang 419 nm tidak kurang dari 0,20.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar deksametason natrium fosfat. Jika spektrum yang diperoleh dengan zat uji dan zat standar dalam bentuk padat memperlihatkan perbedaan, larutkan zat uji dan standar secara terpisah dengan alkohol, evaporasikan di atas penangas air dan catat spektrum baru dari residu.
- Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel dengan indikator fluoresensi (254 nm).

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 10 mg zat uji dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 20 mg standar deksametason natrium fosfat dalam metanol sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar prednisolon natrium fosfat dalam larutan standar (a) sampai volume 10 ml.

**Fase gerak.** Tambah campuran 20 volume asam asetat glasial, 20 volume air dan 60 volume butanol

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat dan ukuran dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a). Semprot dengan larutan asam sulfat-alkohol. Panaskan pada suhu 120°C selama 10 menit atau sampai bercak nampak, dinginkan. Periksa dengan cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, warna dengan bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) dan terlihat berfluoresensi pada cahaya ultraviolet (365 nm).

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

- Pada 2 mg tambah 2 ml asam sulfat dan aduk.

Dalam 5 menit, terbentuk warna coklat kekuningan. Tambah 10 ml air dan aduk. Larutan jernih tidak berwarna.

- E. Campur 5 mg dengan 45 mg magnesium oksida dan pijarkan dalam cawan porselen sampai diperoleh residu hampir putih (5 menit), dinginkan, tambah 1 ml air, 0,05 ml larutan fenoltalein dan 1 ml asam hidroklorida encer sampai larutan tidak berwarna, dan saring. Pada 1,0 ml, tambah 0,1 ml larutan alizarin S dan 0,1 ml zirkonil nitrat, aduk. Diamkan selama 5 menit. Larutan uji kuning dan blanko merah.
- F. Pada 40 mg tambahkan 2 ml asam sulfat dan panaskan dengan perlahan-lahan sampai terlihat uap putih, tambah sedikit asam nitrat, lanjutkan pemanasan sampai larutan hampir tidak berwarna dan dinginkan. Tambahkan 2 ml air, panaskan sampai terlihat uap putih, dinginkan, tambahkan 10 ml air dan netralkan dengan amoniak encer sampai kertas lakmus merah. Larutan memberikan reaksi natrium dan fosfat.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 20 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar B<sub>7</sub>.

**pH.** Encerkan 1 ml larutan S dengan air bebas karbon dioksida sampai 5 ml. pH 7,5—9,5.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam air sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah +75° sampai +83°, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 2 mg standar deksametason natrium fosfat dan 2 mg standar betametason natrium fosfat dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Pada 1,0 ml larutan uji tambah fase gerak sampai volume 100,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilikat 5 µm, ukuran 0,25 m x 4,6 mm.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Fase gerak.** Larutkan 1,36 g kalium dihidrogen fosfat dan 0,6 heksilamin dalam 182,5 ml air, aduk dan diamkan selama 10 menit, tambah 67,5 ml asetonitril, aduk dan saring.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Ekuilibrasi kolom dengan fase gerak pada laju alir 1 ml/menit selama 45 menit.

Lakukan kesesuaian sistem sehingga tinggi puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan 20 µl larutan standar (b) adalah 50% dari skala-penuh.

**Injek.** 20 µl larutan standar (a). Waktu tambat pada kromatogram betametason natrium fosfat sekitar 12,5 menit dan deksametason natrium fosfat sekitar 14 menit.

Uji tidak absah kecuali jika, resolusi antara puncak betametason natrium fosfat dan deksametason natrium fosfat sedikitnya 2,2, jika perlu, lakukan penyesuaian konsentrasi asetonitril atau air pada fase gerak.

**Injek.** 20 µl larutan uji dan 20 µl larutan standar (b). Lanjutkan kromatografi dua kali waktu tambat pada puncak utama. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji area puncak lain, selain puncak utama, tidak lebih besar dari setengah area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%). Jumlah area dari semua puncak tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,0%). Abaikan puncak lain dengan area kurang dari 0,05 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b).

**Fosfat.** Larutkan dan encerkan 50 mg dalam air sampai batas volume 100 ml. Pada 10 ml larutan ini tambah 5 ml molibdovanadat, aduk dan diamkan selama 5 menit. Warna kuning larutan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan standar yang disiapkan pada saat bersamaan dengan cara sama menggunakan 10 ml standar fosfat (5 ppm PO<sub>4</sub>) (1%).

**Etanol.** Tidak lebih dari 3,0% b/b, lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan standar internal.** Encerkan 1,0 ml propanol dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan uji.** Larutkan 0,5 g zat uji dalam 5,0 ml larutan standar internal dan encerkan dengan air sampai 10,0 ml.

**Larutan standar.** Encerkan 1,0 g etanol dengan air sampai batas volume 100,0 ml. Pada 2,0 ml larutan tambahkan 5,0 ml larutan standar internal dan encerkan dengan air sampai volume 10,0 ml.

**Kolom.** Kopolimer etilvinilbenzen-divinilbenzen 150 µm sampai 180 µm, ukuran 1 m x 3,2 mm, suhu kolom 150°C dan injektor 250°C.

**Gas pembawa.** Nitrogen dengan laju alir 30 ml/menit.

**Detektor.** Detektor Ionisasi Nyala (FID), suhu detektor 280°C.

**Injek.** 2 µl dari setiap larutan.

**Etanol dan air.** Penetapan kadar air, gunakan 0,2 g dengan metode semi-mikro. Tambahkan persentase isi air dan etanol yang diperoleh dalam uji untuk etanol. Jumlah % isi air dan etanol tidak lebih besar dari 13,0% b/b.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam air sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 10,0 ml larutan dengan

air sampai batas volume 500,0 ml. Ukur serapan pada panjang gelombang maksimum.

2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campur 26 bagian metanol dengan 74 bagian larutan trietilamin (7,5 ml trietilamina pekat dalam air sampai batas volume 1 liter. Atur pH 5,4 dengan asam fosfat pekat)

**Larutan standar.** Larutkan standar deksameton fosfat dalam fase gerak sampai 0,5 mg/ml. Larutkan standar deksameton dalam campuran metanol dan air (1:1) sampai 50 µg/ml. Encerkan 10 ml larutan standar deksameton fosfat dan 1,0 ml larutan standar deksameton dengan fase gerak sampai batas volume 100 ml, sampai diperoleh standar deksameton fosfat 50 µg/ml dan standar deksameton 0,5 µg/ml.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50 mg zat uji dalam fase gerak sampai batas volume 100 ml. Encerkan 5,0 ml larutan dengan fase gerak sampai volume 50 ml.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Kolom.** Gugus fenil 5 µm, ukuran 4,5 mm x 25 cm.

**Laju alir.** 1,2 ml/menit.

**Injek.** 20 µl larutan uji dan standar.

Waktu tambat relatif deksameton sekitar 0,7 dan deksameton fosfat sekitar 1,0.

### Penyimpanan

Kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

### Ketidakhurnian

- A. Deksametason.  
B. Betametason natrium fosfat.

### Khasiat

Kortikosteroid.

## Deksametason Injeksi

### Definisi

Deksametason injeksi adalah larutan steril deksameton natrium fosfat dalam air untuk injeksi dan larutan dapar yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

- A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel F<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 20 volume air, 20 volume asam asetat dan 60 volume butanol

**Larutan (1).** Zat uji (deksameton natrium fosfat) 0,1% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Standar deksameton natrium fosfat 0,1% b/v dalam metanol.

**Larutan (3).** Standar deksameton natrium fosfat 0,1% b/v dan prednisolon 0,1% b/v dalam metanol.

Totolkan secara terpisah 5 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan dengan suhu 110°C selama 10 menit, semprot dengan asam sulfat-etanol (20%) dan panaskan pada suhu 120°C selama 10 menit, dinginkan dan periksa dengan cahaya dan cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak utama pada kromatogram yang dipeoleh dengan larutan (1) adalah sesuai pada tempat dan warna dan ukuran dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan (2). Uji tidak absah, kecuali jika bercak yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan 2 bercak terpisah.

- B. Pada penetapan kadar, puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) menunjukkan waktu tambat yang sesuai dengan puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2).

**Kebasaan.** pH 7—8,5.

### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campur 26 bagian metanol dengan 74 bagian larutan trietilamin (7,5 ml trietilamina pekat dalam air sampai batas volume 1 liter. Atur pH 5,4 dengan asam fosfat pekat)

**Larutan standar.** Larutkan standar deksameton fosfat dalam fase gerak sampai 0,5 mg/ml. Larutkan standar deksameton dalam campuran metanol dan air (1:1) sampai 50 µg/ml. Encerkan 10 ml larutan standar deksameton fosfat dan 1,0 ml larutan standar deksameton dengan fase gerak sampai batas volume 100 ml, sampai diperoleh standar deksameton fosfat 50 µg/ml dan standar deksameton 0,5 µg/ml.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50 mg zat uji dalam fase gerak sampai batas volume 100 ml. Encerkan 5,0 ml larutan dengan fase gerak sampai volume 50 ml.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Kolom.** Hypersil ODS, 5 µm, 5 mm x 25 cm.

**Laju alir.** 1,2 ml/menit.

**Injek.** 20 µl larutan uji dan standar.

Waktu tambat relatif deksameton sekitar 0,7 dan deksameton fosfat sekitar 1,0.

### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Untuk injeksi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

## Deksametason Tablet

### Definisi

Deksametason tablet mengandung deksameton natrium fosfat atau asetat dalam pembawa yang sesuai. Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut:

Mengandung deksameton tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel F<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Campur 20 volume air, 20 volume asam asetat dan 60 volume butanol.

**Larutan (1).** Zat uji (deksameton natrium fosfat) 0,1% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Standar deksameton natrium fosfat 0,1% b/v dalam metanol.

**Larutan (3).** Standar deksameton natrium fosfat 0,1% b/v dan prednisolon 0,1% b/v dalam metanol.

Totolkan secara terpisah 5 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan dengan suhu 110°C selama 10 menit, semprot dengan asam sulfat-etanol (20%) dan panaskan pada suhu 120°C selama 10 menit, dinginkan dan periksa dengan cahaya dan cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) adalah sesuai pada tempat dan warna dan ukuran dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan (2). Uji tidak absah, kecuali jika bercak yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan 2 bercak terpisah.

B. Pada penetapan kadar, puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) menunjukkan waktu tambat yang sesuai dengan puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2).

C. Pada 2 ml larutan uji 0,002% b/v dalam etanol (96%) tambah 10 ml larutan fenilhidrazin sulfat, aduk dan panaskan diatas penangas air pada suhu 60°C selama 20 menit. Dinginkan segera, serapan ultraviolet pada panjang gelombang 423 nm tidak kurang dari 0,42.

**Keseragaman isi.** Memenuhi uji keseragaman.

### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campur 26 bagian metanol dengan 74 bagian larutan trietilamin (7,5 ml trietilamina pekat dalam air sampai batas volume 1 liter. Atur pH 5,4 dengan asam fosfat pekat)

**Larutan standar.** Larutkan standar deksameton fosfat dalam fase gerak sampai 0,5 mg/ml. Larutkan standar deksameton dalam campuran metanol dan air (1:1) sampai 50 µg/ml. Encerkan 10 ml larutan

standar deksameton fosfat dan 1,0 ml larutan standar deksameton dengan fase gerak sampai batas volume 100 ml, sampai diperoleh standar deksameton fosfat 50 µg/ml dan standar deksameton 0,5 µg/ml.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50 mg zat uji dalam fase gerak sampai batas volume 100 ml. Encerkan 5,0 ml larutan dengan fase gerak sampai volume 50 ml.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Kolom.** Hypersil ODS, 5 µm, 4,5 mm x 25 cm.

**Laju alir.** 1,2 ml/menit.

**Injek.** 20 µl larutan uji dan standar.

Waktu tambat relatif deksameton sekitar 0,7 dan deksameton fosfat sekitar 1,0.

### Penyimpanan

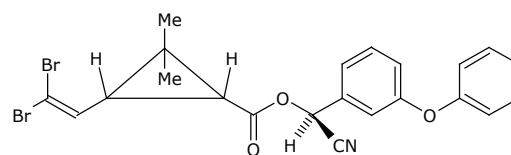
Dalam wadah tertutup kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Untuk injeksi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

## Deltametrin

### Deltamethrin



C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>Br<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>

BM: 505,2

[52918-63-5]

### Definisi

Deltametrin adalah (S)-α-siano-3-fenoksibenzil-(1R,3R)-3-(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilsiklopropan karboksilat.

Mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>Br<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal berwarna putih kekuningan.

**Kelarutan.** Tidak larut dalam air, larut dalam etanol (96%) dan aseton.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah, sesuai dengan spektrum serapan standar deltametrin.

B. Dalam uji senyawa sejenis, bercak utama yang diperoleh dengan larutan (2) sesuai dengan yang diperoleh dengan larutan (5).

**Rotasi jenis.** Larutan 4% b/v dalam toluen, +55,5° sampai +58,5°.

**Asam besistemik klorida.** Tidak lebih dari 0,2% yang ditentukan dengan metode berikut. Larutkan 2 g dalam 100 ml metanol dengan pemanasan sedang, dinginkan.

Titration dengan kalium hidroksida 0,02 M menggunakan campuran larutan mengandung dimetil kuning 0,8% b/v dan metilen biru 0,08% b/v dalam metanol sebagai indikator sampai titik-akhir hijau. Setiap ml kalium hidroksida 0,02 M setara dengan 6,329 mg asam besistemik klorida,  $C_8H_9Br_2ClO$ .

**Asam besistemik dan besistemik anhidrida.** Tidak lebih dari 1% yang ditetapkan oleh metode berikut.

**Asam besistemik.** Larutkan 2 g dalam 100 ml etanol (96%) dengan pemanasan sedang. Dinginkan dalam air es dan dengan segera titrasi menggunakan natrium hidroksida 0,02 M dan 1-naftolbenzen 1% b/v dalam etanol (96%) sebagai indikator hingga titik-akhir hijau. Koreksi volume dari titran asam besistemik klorida menggunakan rumus berikut:

$$V_x = \frac{P_2}{P_1}$$

Keterangan:

V = volume titrasi diperoleh asam besistemik klorida

$P_1$  = berat dari sediaan untuk uji besistemik klorida

$P_2$  = berat dari sediaan yang digunakan dalam uji ini

Setiap ml natrium hidroksida 0,02 M setara dengan 5,959 mg asam besistemik,  $C_8H_9Br_2ClO$ .

**Besistemik anhidrida.** Pada 1,0 g, tambahkan 10 ml anilin 0,01 M dalam sikloheksan dan 10 ml asam asetat glasial. Sumbat botol dan biarkan dalam suhu ruang selama 1 jam. Titrasi dengan asam perklorat 0,01 M menggunakan kristal violet sebagai indikator. Ulangi prosedur tersebut dengan menghilangkan zat uji. Koreksi volume titran asam besistemik klorid dengan menggunakan rumus di atas. Setiap ml asam perklorat 0,01 M setara dengan 5,779 mg besistemik anhidrat  $C_{16}H_{18}Br_4O_3$ .

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel 60 F<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 20 volume di-isopropil eter serta 80 volume heksan.

**Larutan (1).** Zat uji 2,0% b/v dalam toluen.

**Larutan (2).** Zat uji 0,5% b/v dalam toluen.

**Larutan (3).** Zat uji 0,020% b/v dalam toluen.

**Larutan (4).** Zat uji 0,010% b/v dalam toluen.

**Larutan (5).** Standar deltametrin 0,5% b/v dalam toluen.

Totolkan secara terpisah 10 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng, keringkan di udara dan periksa di bawah cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm. Bercak kedua yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (3) (1%) dan tidak lebih dari dua bercak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (4) (0,5%).

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar deltametrin dengan fase gerak sampai konsentrasi 0,1% b/v.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan dalam fase gerak sampai konsentrasi 0,1% b/v.

**Larutan ketidakhurnian.** Larutkan dan encerkan standar ketidakhurnian deltametrin dengan fase gerak sampai konsentrasi 0,1% b/v.

**Kolom.** Zorbax Sil 5 µm, ukuran 25 cm × 4,6 mm. atau yang sesuai

**Fase gerak.** Campuran 0,04 volume propan-2-ol, 2 volume asetonitril, 10 volume diklorometan dan 100 volume heksan.

**Laju alir.** 1,3 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 278 nm.

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan ketidakhurnian, puncak (R)-Deltametrin tampak segera sebelum puncak utama, seperti yang ditunjukkan dalam standar kromatogram dengan ketidakhurnian standar deltametrin.

#### Ketidakhurnian

A. Asam besistemik.

B. Besistemik anhidrida.

C. Asam besistemik klorida.

#### Khasiat

Obat pembasmi serangga.

## Deltametrin Pour-on

#### Definisi

Deltametrin *pour-on* adalah larutan *pour-on*. Mengandung deltametrin dalam minyak yang sesuai.

*Pour-on* memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam sediaan cair untuk pemakaian pada kulit dan persyaratan berikut:

Mengandung deltametrin,  $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera dalam etiket.

#### Identifikasi

Pada penetapan kadar, kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) memperlihatkan puncak dengan waktu tambat yang sama dengan yang diperoleh larutan (2).

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Campur sediaan setara 30 mg deltametrin dengan n-heksan sampai batas volume 100 ml. Encerkan 1 volume sampai 4 volume dengan n-heksan.

**Larutan (2).** Standar deltametrin 0,0075% b/v dalam n-heksan.

**Larutan (3).** Standar ketidakhurnian deltametrin 0,0075% b/v dalam n-heksan.

**Kolom.** Nucleosil-NO<sub>2</sub> 5 µm, ukuran 25 cm × 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Heksan 0,25% v/v dalam propanol.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 230 nm.

Penetapan kadar tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3), puncak yang sesuai dengan (R)-Deltametrin tampak segera sebelum puncak utama, sebagaimana ditunjukkan dalam standar kromatogram dari ketidakh murnian deltametrin. Hitung kadar  $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$  menggunakan isi  $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$  standar deltametrin.

### Penyimpanan

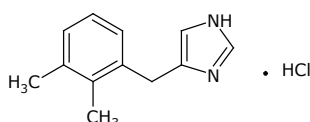
Dalam wadah tertutup kedap dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Indikasi, 3) Kadaluwarsa 4) Kondisi penyimpanan.

## Detomidin Hidroklorida

*Detomidine Hydrochloride*



$C_{12}H_{15}ClN_2$

BM: 222,7

[90038-01-0]

### Definisi

Detomidin hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,5% dari 4-(2,3-dimetilbenzil)-1H-imidazol hidroklorida, dihitungkan dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih, higroskopik.

**Kelarutan.** Larut dalam air, mudah larut dalam alkohol, sangat sukar larut dalam metilen klorida, praktis tidak larut dalam aseton.

**Suhu lebur.** 160°C.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar detomidin hidroklorida. Jika spektrum yang diperoleh menunjukkan perbedaan, keringkan zat uji dan standar pada suhu 100°—105°C, periksa kembali.

B. Memberikan reaksi dari klorida.

**Kejernihan larutan.** Larutkan 0,25 g dalam 25 ml air. Larutan jernih dan tidak berwarna.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25 mg zat uji dalam fase gerak sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 0,2 ml larutan uji

dalam fase gerak sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 1 mg ketidakh murnian standar detomidin B dalam fase gerak sampai batas volume 100 ml. Encerkan 1 ml dalam larutan standar (a) sampai batas volume 10 ml.

**Kolom.** ODS 5  $\mu$ m, ukuran 15 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 35 volume asetonitril dan 65 volume amonium fosfat (2,64 g/l).

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 220 nm.

Waktu tambat detomidin sekitar 7 menit dan waktu tambat relatif dari ketidakh murnian A, B dan C detomidin adalah sekitar 0,4; 2,0 dan 3,0.

**Injek.** 20  $\mu$ l dari larutan standar (a). Lakukan penyesuaian sensitivitas sistem sehingga ketinggian dari puncak utama di kromatogram yang diperoleh adalah sedikitnya 50% dari skala-penuh.

**Injek.** 20  $\mu$ l dari larutan standar (b). Uji tidak absah kecuali jika: antara puncak detomidin dan ketidakh murnian B adalah sedikitnya 5.

**Injek.** 20  $\mu$ l larutan uji. Lanjutkan kromatografi sampai empat kali waktu tambat puncak utama. Kalikan area dari setiap puncak yang sesuai dengan ketidakh murnian C dan diastereoisomer-nya yang terelusi dengan waktu tambat relatif sekitar 3, dan faktor koreksi 2,7. Jumlah area dari beberapa puncak tidak lebih besar dari 2,5 kali area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,5%); area puncak lain yang merupakan bagian dari puncak utama sesuai dengan ketidakh murnian C tidak lebih besar dari area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,2%); jumlah area dari semua puncak yang merupakan bagian dari puncak utama tidak lebih besar dari 5 kali area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a) (1%).

Abaikan puncak dengan area kurang dari 0,25 kali area puncak utama yang diperoleh larutan standar (a).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C. Gunakan 1 g.

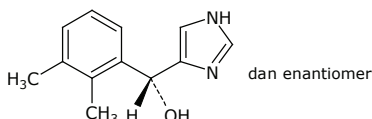
**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%, gunakan 1g.

### Penetapan kadar

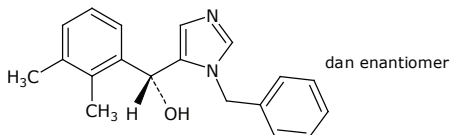
Larutkan 0,170 g dalam 50 ml alkohol. Tambahkan 5,0 ml asam hidroklorida 0,01 M. Lakukan titrasi potensio-metri, menggunakan natrium hidroksida 0,1 M. Baca volume yang ditambahkan antara kedua titik infleksi. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 22,27 mg  $C_{12}H_{15}ClN_2$ .

### Penyimpanan

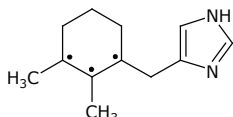
Kedap udara.

**Ketidakmurnian**

A. (RS)-(2,3-dimetilfenil)(1H-imidazol-4-il)metanol.



B. (RS)-(1-benzil-1H-imidazol-5-il)(2,3-dimetilfenil)metanol.



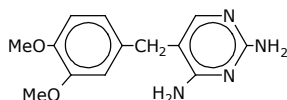
C. 4-[(2,3-dimetilsikloheksil)metil]-1H-imidazol.

**Khasiat**

Trankuiliser.

**Diaveridin**

*Diaveridine*



$C_{13}H_{16}N_4O_2$

BM: 260,4

[5355-16-8]

**Definisi**

Diaveridin adalah 5-veratrilpirimidin-2, 4-dildiamin. Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{13}H_{16}N_4O_2$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Putih atau serbuk putih sampai krem.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air dan etanol (96%), larut dalam kloroform.

**Identifikasi**

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar diaveridin.
- Serapan ultraviolet pada 230—350 nm, larutan 0,003% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M pada panjang gelombang 276 nm sekitar 0,90.
- Pada 0,25 g tambah 0,5 ml campuran dengan volume yang sama asam asetat anhidrat dan asam asetat glasial, panaskan dengan refluks kondensator selama 10 menit. Dinginkan, aduk dengan konstan, tambah 5 ml air dan 2,5 ml natrium hidroksida 2 M biarkan selama 20 menit, terbentuk endapan. Bilas endapan dengan air dan keringkan dengan suhu 105°C. Suhu lebur 186°C.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub>, atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 70 volume etil asetat, 20 volume metanol dan 5 volume asam asetat glasial.

**Larutan (1).** Zat uji 2,0% b/v dalam campuran 1 volume kloroform dan 1 volume metanol.

**Larutan (2).** Zat uji 0,0070% b/v dalam campuran 1 volume kloroform dan 1 volume metanol.

Totolkan masing-masing 20 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan sinar ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm.

Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat dari pada bercak yang diperoleh dengan larutan (2).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C. Gunakan 1 g.

**Sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.

**Penetapan kadar**

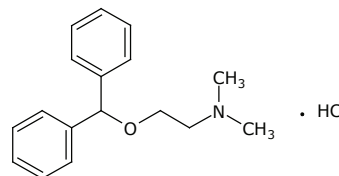
Lakukan titrasi bebas air dengan 0,5 g dan larutan kuinaldin merah sebagai indikator. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara 26,04 mg  $C_{13}H_{16}N_4O_2$ .

**Khasiat**

Koksidiostat.

**Difenhidramin Hidroklorida**

*Diphenhydramine Hydrochloride*



$C_{17}H_{21}NO$ , HCl

BM: 291,8

[147-24-0]

**Definisi**

Difenhidramin hidroklorida adalah 2-(difenilmetoksi)-N,N-dimetiletanamin hidroklorida.

Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dihitung dari standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air dan alkohol.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: C, D.

Identifikasi kedua: A, B, D.

A. Suhu lebur 168°—172°C.

B. Larutkan dan encerkan 50 mg dalam alkohol sampai batas volume 100,0 ml. Periksa pada panjang gelombang 230—350 nm, larutan menunjukkan 3 serapan maksimum, pada panjang gelombang 253 nm, 258 nm dan 264 nm. Perbandingan serapan pada panjang gelombang 258 nm dan 253



nm adalah 1,1—1,3. Perbandingan serapan pada panjang gelombang 258 nm dan 264 nm adalah 1,2—1,4.

C. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar difenhidramin hidroklorida.

D. Memberikan reaksi klorida.

**Larutan S.** Larutkan 1,0 g dalam air bebas karbon dioksida dan encerkan sampai batas volume 20 ml dengan pelarut sama.

**Kejernihan larutan.** Larutan S dan lima kali pengenceran larutan S adalah jernih. tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan dengan larutan standar BY<sub>6</sub>.

**Keasaman-kebasaan.** Pada 10 ml larutan S, tambahkan 0,15 ml larutan merah metil dan 0,25 ml asam hidroklorida 0,01 M. Larutan berwarna merah muda. Tidak lebih dari 0,5 ml natrium hidoksida 0,01 M diperlukan untuk mengubah warna indikator menjadi kuning.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 70 mg zat uji dengan fase gerak sampai batas volume 20,0 ml. Encerkan 2,0 ml larutan sampai batas volume 10,0 ml dengan fase gerak.

**Larutan standar (a).** Encerkan 1,0 ml larutan uji sampai batas volume 10,0 ml dengan fase gerak. Encerkan 1,0 ml larutan ini sampai batas volume 20,0 ml dengan fase gerak.

**Larutan standar (b).** Larutkan 5 mg standar difenhidramin ketidakhurnian A dan 5 mg difenilmetanol dengan fase gerak serta encerkan sampai batas volume 10,0 ml. Pada 2,0 ml larutan ini tambahkan 1,5 ml larutan uji dan encerkan sampai batas volume 10,0 ml dengan fase gerak.

**Kolom.** Oktisilil 5 µm, 0,25 m x 4,6 mm.

**Fase gerak.** Campuran 35 volume asetonitril dan 65 volume kalium dihidrogen fosfat (5,4 g/l), atur pH 3,0 menggunakan asam fosfat.

**Laju alir.** 1,2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 220 nm.

**Injek.** 10 µl.

**Waktu uji.** 7 kali waktu tambat difenhidramin. Waktu tambat relatif difenhidramin sekitar 6 min; ketidakhurnian A sekitar 0,9; ketidakhurnian B sekitar 1,5; ketidakhurnian C sekitar 1,8; ketidakhurnian D sekitar 2,6; ketidakhurnian E sekitar 5,1.

**Kesesuaian sistem**

**Larutan standar (b).** Resolusi: minimum 2,0 antara puncak difenhidramin dan ketidakhurnian A.

**Batas**

**Faktor-koreksi.** Untuk menghitung kadar, kalikan area puncak ketidakhurnian D dengan 0,7.

**Ketidakhurnian A.** Tidak lebih dari area puncak

utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,5%).

**Ketidakhurnian lain.** Tidak lebih dari 0,6 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,3%).

**Total.** Tidak lebih dari dua kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (1,0%).

**Abaikan batas.** 0,1 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,05%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5. Pada pengeringan dengan suhu 105°C. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%, gunakan 1g.

### Penetapan kadar

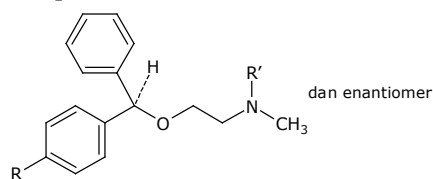
Larutkan 0,250 g dalam 50 ml alkohol dan tambahkan 5,0 ml asam hidroklorida 0,01 M. Titrasi secara potensiometrik, menggunakan natrium hidoksida 0,1 M. Baca volume yang ditambahkan antara 2 titik infleksi. Setiap ml natrium hidoksida 0,1 M setara dengan 29,18 mg C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>NO, HCl.

### Penyimpanan

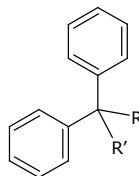
Dilindungi dari cahaya.

### Ketidakhurnian

Menetapkan ketidakhurnian A, B, C, D, E.



- R = R' = H: 2-(difenilmetoksi)-N-metiletanamina.
- R = R' = CH<sub>3</sub>: 2-[(RS)-(4-metilfenil)fenilmetoksi]-N,N-dimetiletanamina.
- R = Br, R' = CH<sub>3</sub>: 2-[(RS)-(4-bromofenil)fenilmetoksi]-N,N-dimetiletanamina.



- R = OH, R' = H: difenilmetanol (benzhidrol).
- R + R' = O: difenilmetanon (benzofenon).

### Khasiat

Antagonis reseptor H<sub>1</sub>-Histamin.

## Difenhidramin Larutan Oral

### Definisi

Difenhidramin larutan oral adalah larutan difenhidramin hidroklorida dalam suatu pembawa yang sesuai.

Larutan oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan

untuk sediaan larutan oral dan persyaratan berikut.

Mengandung difenhidramin hidroklorida  $C_{17}H_{21}NO$ , HCl tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

A. Lakukan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 50 volume etanol (96%), 30 volume asam asetat glasial dan 20 volume air.

**Larutan (1).** Sediaan setara 50 mg difenhidramin hidroklorida, larutkan dengan asam hidroklorida 2 M, bilas tiga kali masing-masing 20 ml eter, buang lapisan eter, ekstraksi dua kali, masing-masing 20 ml kloroform, keringkan ekstrak menggunakan larutan natrium sulfat anhidrat, uapkan kloroform dan larutkan residu dalam 5 ml kloroform.

**Larutan (2).** Standar difenhidramin hidroklorida 1% b/v dalam kloroform.

Totolkan secara terpisah 5  $\mu$ l dari setiap larutan. Angkat dan keringkan lempeng, kemudian semprot dengan larutan yang mengandung asam kloroplatinat (IV) 0,25% b/v dan kalium iodida 5% b/v. Warna dan posisi bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan warna dan posisi yang yang diperoleh dengan larutan(2).

B. Uapkan sampai kering 1 ml larutan (1) yang diperoleh dari metode A, larutkan residu dalam 0,15 ml air dan tambahkan 2 ml asam sulfat, sampai terbentuk warna kuning. Kemudian tambahkan 0,1 ml asam nitrat hingga terbentuk warna merah. Tambahkan 15 ml air, dinginkan, dan tambahkan 5 ml kloroform, campur dan diamkan hingga terpisah dan lapisan kloroform menjadi berwarna violet.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel H, atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 80 volume kloroform dan 20 ml volume metanol.

**Larutan (1).** Gunakan larutan (1) dari uji identifikasi metode A.

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan (1) dengan kloroform sampai batas volume 100 ml.

Totolkan secara 5  $\mu$ l dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan, kemudian semprot dengan menggunakan larutan kalium iodobismut. Bercak kedua pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak boleh lebih kuat dari bercak kedua yang diperoleh dengan larutan (2).

### Penetapan kadar

Pada sediaan setara dengan 0,1 g difenhidramin hidroklorida, asamkan dengan asam hidroklorida 2 M, bilas tiga kali dengan eter masing-masing 20 ml, buang eter, buat larutan menjadi basa dengan natrium hidroksida 5 M. Kemudian ekstraksi dengan 15 ml eter beberapa

kali sampai terekstraksi sempurna. Bilas dua kali campuran ekstrak dengan air masing-masing 5 ml, kemudian bilas dengan 1 ml eter dan evaporasikan sampai kering. Larutkan residu dalam 15 ml asam sulfat 0,05 M dan titrasi sisa asam dengan natrium hidroksida 0,1 M, menggunakan metil merah sebagai indikator. Setiap ml asam sulfat 0,05 M setara dengan 29,18 mg  $C_{17}H_{21}NO$ , HCl.

### Penyimpanan

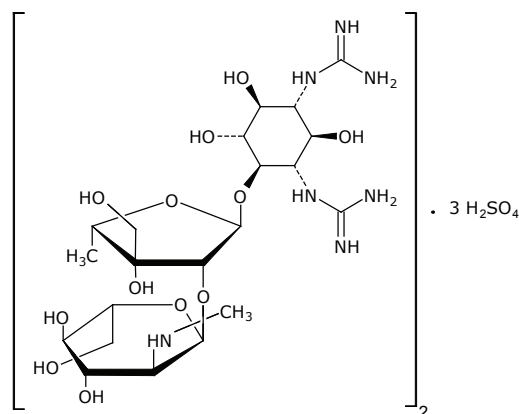
Dalam wadah, kedap dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) indikasi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

## Dihidrostreptomisin Sulfat

*Dihydrostreptomycin Sulphate*



$(C_{21}H_{41}N_7O_{12})_2 \cdot 3H_2SO_4$  BM: 1461 [5490-27-7]

### Definisi

Dihidrostreptomisin sulfat adalah bis[N,N'-bis(aminoiminometil)-4-O-[5-deoksi-2-O-[2-deoksi-2-(metilamino)-a-L-glukopiranosil]-3-C-(hidroksimetil)-a-L-liksofuranosil]-D-streptamin] tris (sulfat), sulfat dari zat yang diperoleh dengan katalisis hidrogenasi streptomisin atau dengan cara-cara lain.

Potensi tidak kurang dari 730 IU/mg, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Toksitas.** Injek ke setiap tikus 1 mg yang dilarutkan dalam 0,5 ml air untuk injeksi.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, praktis tidak larut dalam aseton, alkohol dan metanol. Mungkin saja higroskopik.

### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel H atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 10 mg zat uji dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar dihidrostreptomisin sulfat dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar dihidrostreptomisin sulfat, 10 mg standar kanamisin monosulfat dan 10 mg standar neomisin sulfat dengan air sampai 10 ml.

**Fase gerak.** Kalium dihidrogen fosfat (70 g/l).

Totolkan secara terpisah 10 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan campuran 1,3-dihidroksinaftalen (2 g/l) dalam alkohol dan asam sulfat (460 g/l) dengan volume yang sama. Panaskan pada suhu 150°C selama 5–10 menit. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, warna dan ukuran pada bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan 3 bercak yang terpisah.

- B. Larutkan 0,1 g dalam 2 ml air, tambahkan 1 ml larutan  $\alpha$ -naftol dan 2 ml campuran larutan natrium hipoklorit pekat dan air dengan volume yang sama. Terbentuk warna merah.
- C. Larutkan 10 mg dalam 5 ml air dan tambahkan 1 ml asam hidroklorida 1 M. Panaskan dalam penangas air selama 2 menit. Tambahkan 2 ml  $\alpha$ -naftol 5 g/l dalam natrium hidroksida 1 M dan panaskan dalam penangas air selama 1 menit. Terbentuk warna violet-merah.
- D. Memberikan reaksi sulfat.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 10 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan intensitas 5 dari batas larutan standar. Diamkan dan lindungi dari cahaya pada suhu 20°C selama 24 jam, larutan S tidak lebih opalesen dibandingkan standar II.

**pH.** 5,0 sampai 7,0.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,2 g dalam air sampai batas volume 10,0 ml. Rotasi jenis adalah  $-83^\circ$  sampai  $-91^\circ$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Metanol.** Tidak lebih dari 0,2%. Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 1,0 g zat uji dalam air sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar.** Encerkan 8,0 mg metanol dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Kolom.** Kopolimer etilvinilbenzen-divinilbenzen 150–180 µm, ukuran (1,5–2,0 m) x (2,0–4,0 mm). Suhu kolom antara 120°–140°C dan injektor sedikitnya 50°C.

**Gas pembawa.** Nitrogen dengan laju alir 30–40 ml/menit.

**Detektor.** Flame Ionisation Detector (FID) dengan suhu sedikitnya 50°C.

Area puncak metanol pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji tidak lebih besar dari area puncak yang diperoleh dengan larutan standar.

**Streptomisin.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam air sampai batas volume 5,0 ml. Tambahkan 5,0 ml natrium hidroksida 0,2 M dan panaskan dalam penangas air selama 10 menit. Dinginkan dalam es selama 5 menit, tambahkan 3 ml amonium besi(III) sulfat 15 g/l dalam asam sulfat 0,25 M, encerkan dengan air sampai batas volume 25,0 ml dan aduk.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 10 mg standar streptomisin sulfat dalam air sampai batas volume 5,0 ml. Tambahkan 5,0 ml natrium hidroksida 0,2 M dan panaskan dalam penangas air selama 10 menit.

Ukur serapan pada panjang gelombang maksimum 525 nm. Serapan larutan uji tidak lebih besar dari larutan standar (1%).

**Logam berat.** Pada 1,0 g memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 5,0% pada pengeringan dengan suhu 60°C di atas fosfor pentoksida dan tekanan tidak melebihi 0,1 kPa selama 4 jam sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 1,0%. Gunakan 1g.

**Sulfat.** 18,0–21,5%. Larutkan 0,25 g dalam 100 ml air dan atur pH 11 dengan amoniak pekat. Tambahkan 10,0 ml barium klorida 0,1 M dan 0,5 mg ungu ftalein. Titrasi dengan natrium edetat 0,1 M, tambahkan 50 ml alkohol ketika warna larutan mulai berubah. Lanjutkan titrasi sampai warna hilang. Setiap ml barium klorida 0,1 M setara dengan 9,606 mg sulfat.

**Endotoksin bakteri.** Tidak lebih dari 0,50 IU/mg.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

#### Penyimpanan

Kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Antibiotik.

## Dihidrostreptomisin Injeksi

#### Definisi

Dihidrostreptomisin injeksi adalah larutan steril dihidrostreptomisin sulfat dalam air untuk injeksi. Dipersiapkan dengan melarutkan isi wadah dengan sejumlah air untuk injeksi.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam sediaan parenteral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih

dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Gunakan lempeng 0,75 mm dari campuran 0,3 g karbomer dengan 240 ml air dan diamkan, kocok, selama 1 jam; atur pH 7 dengan natrium hidroksida encer dan tambahkan 30 g silika gel H. Panaskan lempeng pada suhu 110°C selama 1 jam, dinginkan dan gunakan dengan segera.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 10 mg zat uji dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar dihidrostreptomisin sulfat dengan air sampai batas volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar dihidrostreptomisin sulfat, 10 mg standar kanamisin monosulfat dan 10 mg neomisin sulfat dengan air sampai volume 10 ml.

**Fase gerak.** Kalium dihidrogen fosfat 70 g/l.

Totolkan secara terpisah 10 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan campuran 1,3-dihidroksinaftalen 2 g/l dalam alkohol dan asam sulfat 460 g/l dengan volume yang sama. Panaskan pada suhu 150°C selama 5–10 menit. bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, warna dan ukuran pada bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a). Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan 3 bercak yang terpisah.

B. Larutkan 0,1 g dalam 2 ml air, tambahkan 1 ml larutan α-naftol dan 2 ml campuran larutan natrium hipoklorit pekat dan air dengan volume yang sama. Terbentuk warna merah.

C. Larutkan 10 mg dalam 5 ml air dan tambahkan 1 ml asam hidroklorida 1 M. Panaskan dalam penangas air selama 2 menit. Tambahkan 2 ml α-naftol 5 g/l dalam natrium hidroksida 1 M dan panaskan dalam penangas air selama 1 menit. Terbentuk warna violet-merah muda.

### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotika.

### Penyimpanan

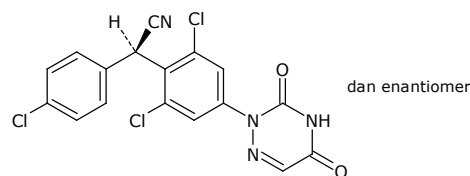
Dalam wadah tertutup kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Untuk injeksi. 3) Kadaluwarsa. 4) Suhu penyimpanan. 5) Jangka waktu penggunaan setelah dilarutkan.

## Diklazuril

*Diclazuril*



C<sub>17</sub>H<sub>9</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>

BM: 407,6

[101831-37-2]

### Definisi

Diklazuril adalah (RS)-(4-klorofenil)[2,6-dikloro-4-(3,5-diokso-4,5-dihidro-1,2,4-triazin-2(3H)-il)fenil]asetonitril.

Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih 101,0% dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau sedikit kuning.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, alkohol dan metilenklorida, agak sukar larut dalam dimetilformamid.

### Identifikasi

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar diklazuril.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 20,0 mg zat uji dalam dimetilformamid sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 5 mg diklazuril untuk kesesuaian sistem dalam dimetilformamid sampai batas volume 5,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan dimetilformamid sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 5,0 ml larutan dengan dimetilformamid sampai batas volume 20,0 ml.

**Kolom.** ODS 3 µm atau yang sesuai, ukuran 10 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai, suhu: 35°.

**Fase gerak A.** Campuran 10 volume amonium format (6,3 g/l), atur pH 4,0 dengan asam format anhidrat, 15 volume asetonitril dan 75 volume air.

**Fase gerak B.** Campuran 10 volume amonium format (6,3 g/l) atur pH 4,0 dengan asam format anhidrat, 85 volume asetonitril dan 5 volume air.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 230 nm.

**Injek.** 5 µl.

### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (a).** Perbandingan puncak dan lembah: minimum dari 1,5 dimana H<sub>p</sub> = ketinggian di atas garis dasar dari puncak sehubungan dengan ketidakmurnian D dan H<sub>v</sub> = ketinggian di atas garis dasar dari titik paling rendah dari kurva pemisahan puncak dari puncak diklazuril.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0—20	100 → 0	0 → 100
20—25	0	100
25—26	0 → 100	100 → 0
26—36	100	0

**Batas**

**Faktor-koreksi.** Untuk perhitungan kadar, kalikan area puncak dari ketidakmurnian berikut oleh faktor-koreksi yang sesuai dengan ketidakmurnian D 1,9; ketidakmurnian H 1,4.

**Ketidakhurnian D.** Tidak lebih dari 0,4 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,1%).

**Ketidakhurnian lain.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,25%).

**Total.** Tidak lebih dari 4 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,0%).

**Abaikan batas.** 0,2 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5% dengan pengeringan pada suhu 105°C selama 4 jam. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%, gunakan 1g.

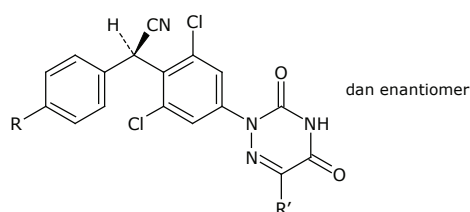
**Penetapan kadar**

Larutkan 0,150 g dalam 75 ml dimetilformamid. Lakukan titrasi potensiometrik menggunakan tetrabutylamonium hidroksida 0,1M. Baca volume yang ditambahkan pada kedua titik infleksi. Lakukan titrasi blanko. Setiap ml tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M setara dengan 20,38 mg C<sub>17</sub>H<sub>9</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>.

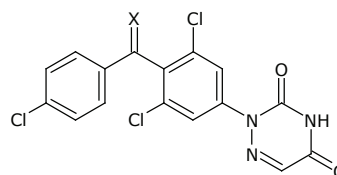
**Penyimpanan**

Dilindungi dari cahaya.

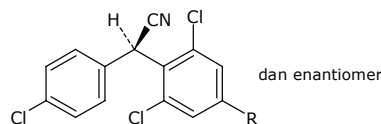
**Ketidakhurnian**



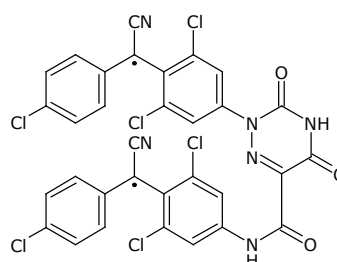
- A. R = Cl, R' = CO<sub>2</sub>H: Asam 2-[3,5-dikloro-4-[(RS)-(4-klorofenil)sianometil]fenil]-3,5-diokso-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,4-triazina-6-karboksilat.
- B. R = OH, R' = H: (RS)-[2,6-dikloro-4-(3,5-diokso-4,5-dihidro-1,2,4-triazina-2(3H)-yl)fenil] (4-hidroksifenil)asetonitril.
- C. R = Cl, R' = CONH<sub>2</sub>: 2-[3,5-dikloro-4-[(RS)-(4-klorofenil)sianometil]fenil]-3,5-diokso-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,4-triazina-6-karboksamida.
- D. R = Cl, R' = CO-O-[CH<sub>2</sub>]<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>: butil 2-[3,5-dikloro-4-[(RS)-(4-klorofenil)sianometil]fenil]-3,5-diokso-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,4-triazina-6-karboksilat.



- E. X = O: 2-[3,5-dikloro-4-(4-klorobenzoil)fenil]-1,2,4-triazina-3,5(2H,4H)-dion.
- F. X = H<sub>2</sub>: 2-[3,5-dikloro-4-(4-klorobenzil)fenil]-1,2,4-triazina-3,5(2H,4H)-dion.



- G. R = NH<sub>2</sub>: (RS)-(4-amino-2,6-diklorofenil)(4-klorofenil)asetonitril.
- H. R = H: (RS)-(4-klorofenil)(2,6-diklorofenil)asetonitril.



- I. N,2-bis[3,5-dikloro-4-[(4-klorofenil)sianometil]fenil]-3,5-diokso-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,4-triazina-6-karboksamida.

**Khasiat**

Antiprotozoa.

**Diklazuril Serbuk Oral**

**Definisi**

Diklazuril serbuk oral mengandung diklazuril. Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih 110,0% dari jumlah yang tertera dalam etiket.

**Identifikasi**

Lakukan dengan metode kromatografi cair, seperti yang tertera dalam diklazuril.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 20 mg zat uji dalam dimetilformamid sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 5 mg diklazuril untuk kesesuaian sistem dalam dimetilformamid sampai volume 5,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan dimetilformamid sampai batas volume 100 ml. Encerkan 5,0 ml larutan dengan dimetilformamid sampai volume 20,0 ml.

**Kolom.** ODS 3 µm atau yang sesuai, ukuran 10 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai, suhu 35°C.

**Fase gerak A.** Campuran 10 volume amonium format (6,3 g/l), atur pH 4,0 dengan asam format anhidrat, 15 volume asetonitril dan 75 volume air.

**Fase gerak B.** Campuran 10 volume amonium format (6,3 g/l) atur pH 4,0 dengan asam format anhidrat, 85 volume asetonitril dan 5 volume air.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 230 nm.

**Injek.** 5 µl.

#### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (a).** Perbandingan puncak dan lembah: minimum dari 1,5 dimana  $H_p$  = ketinggian di atas garis dasar dari puncak sehubungan dengan ketidakmurnian D dan  $H_v$  = ketinggian di atas garis dasar dari titik paling rendah dari kurva pemisahan puncak dari puncak diklazuril.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0—20	100 → 0	0 → 100
20—25	0	100
25—26	0 → 100	100 → 0
26—36	100	0

#### Batas

**Faktor-koreksi.** Untuk perhitungan kadar, kalikan area puncak dari ketidakmurnian berikut oleh faktor-koreksi yang sesuai dengan ketidakmurnian D 1,9; ketidakmurnian H 1,4.

**Ketidakmurnian D.** Tidak lebih dari 0,4 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,1%).

**Ketidakmurnian lain.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,25%).

**Total.** Tidak lebih dari 4 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,0%).

**Abaikan batas.** 0,2 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 3,0%, dengan pengeringan pada suhu 105°C selama 4 jam. Gunakan 1 g.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode seperti yang tertera dalam diklazuril untuk senyawa sejenis atau penetapan kadar.

#### Penyimpanan

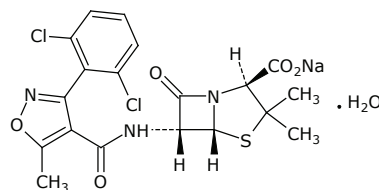
Dalam wadah tertutup, kedap, terlindung dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Jenis sediaan, 3) Indikasi, 4) Waktu kadaluwarsa, 5) Kondisi penyimpanan.

## Dikloksasilin Natrium

*Dicloxacillin Sodium*



$C_{19}H_{16}Cl_2N_3NaO_5S \cdot H_2O$

BM: 510,3 [13412-64-1]

#### Definisi

Dikloksasilin natrium mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari natrium (2S,5R,6R)-6-[[[3-(2,6-diklorofenil)-5-metilisoksazol-4-il]karbonil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptan-2-karboksilat, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih, higroskopik

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, larut dalam alkohol dan metanol.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, D.

Identifikasi kedua: B, C, D.

A. Spektrum serapan inframerah sama dengan spektrum serapan standar kloksasilin natrium.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel H atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan 25 mg zat uji dalam 5 ml air.

**Larutan standar (a).** Larutkan 25 mg standar dikloksasilin natrium dalam 5 ml air.

**Larutan standar (b).** Larutkan 25 mg standar kloksasilin natrium, standar dikloksasilin natrium dan standar flukloksasilin natrium dalam 5 ml air.

**Fase gerak.** Campuran 30 volume aseton dan 70 volume amonium asetat (154 g/l), atur pH 5,0 dengan asam asetat glasial.

Totolkan 1 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara, alirkan dengan uap iodium sampai bercak muncul. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama pada tempat, warna dan ukuran bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan tiga bercak yang terpisah.

C. Pada 2 mg tambah 0,05 ml air dan 2 ml asam sulfat-formaldehid, aduk. Terbentuk warna kuning kehijauan. Panaskan dalam penangas air selama 1 menit, terbentuk larutan kuning.

D. Memberikan reaksi natrium.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 25,0 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih. Ukur serapan larutan S pada panjang gelombang 430 nm tidak lebih besar dari 0,04.

**pH.** Larutan S adalah 5,0 – 7,0.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam air R sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah +128° sampai +143°, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dalam penetapan potensi/kadar, menggunakan:

**Injek.** Larutan uji (a) dan lanjutkan kromatografi untuk 5 kali waktu tambat puncak utama.

**Injek.** Larutan standar (b).

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan pengujian (a), area puncak lain, selain dari puncak utama, tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1%), jumlah area semua puncak, selain dari puncak utama, tidak lebih besar dari 5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (5%). Abaikan puncak lain dengan area kurang dari 0,05 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b).

**N,N-Dimetilanilin.** Tidak lebih dari 20 ppm.

**Asam etilheksanoat.** Tidak lebih 0,8% b/b.

**Air.** 3,0%—4,5%. Gunakan 0,3 g.

**Pirogen.** Bila diperuntukan untuk sediaan parenteral, harus memenuhi uji pirogen.

Injek per kilogram berat badan kelinci, 1 ml larutan dalam air (20 mg/ml).

### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
- Dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 50,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai volume 50,0 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 5,0 ml larutan uji (a) dalam fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 50,0 mg standar dikloksasilin natrium fase gerak sampai batas volume 50,0 ml. Encerkan 5,0 ml dengan fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5,0 ml larutan uji (b) dengan fase gerak sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan 5 mg standar flu-kloksasilin natrium dan 5 mg standar kloksasilin natrium dalam fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5 µm, ukuran 0,25 m x 4 mm.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Fase gerak.** Campuran 25 volume asetonitril dan 75 volume kalium dihidrogen fosfat (2,7 g/l). Atur pH 5,0 dengan natrium hidroksida encer.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 225 nm.

**Injek.** 20 µl.

Injek larutan standar (c). Lakukan kesesuaian sistem sedemikian rupa sehingga puncak utama pada kromatogram yang diperoleh sedikitnya 50% dari skala-penuh. Uji tidak absah kecuali jika, resolusi antara puncak pertama (kloksasilin) dan puncak kedua (flukloksasilin) sedikitnya 2,5.

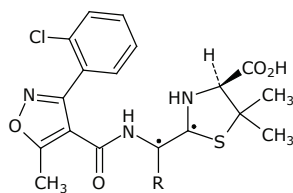
Injek enam kali larutan standar (a). Uji tidak absah kecuali jika, simpangan baku relatif area puncak kloksasilin kurang dari 1,0%.

Injek secara berurutan larutan uji (b) dan larutan standar (a).

### Penyimpanan

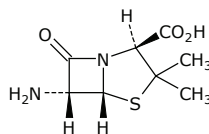
Kedap udara, dilindungi dari cahaya dan di simpan pada suhu tidak melebihi 25°C.

### Ketidakhayuan

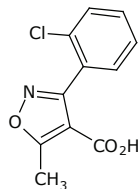


A. R = CO<sub>2</sub>H: Asam (4S)-2-[karboksi[[[3-(2-klorofenil)-5-metilisoksazol-4-il]karbonil]amino]metil]-5,5-dimetiltiazolidina-4-karboksilat (asam penisilat dari kloksasilin).

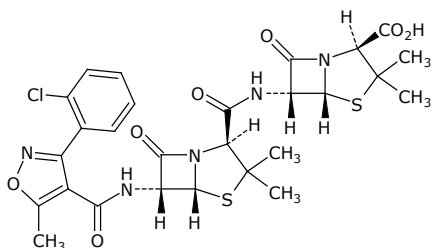
B. R = H: Asam (2RS,4S)-2-[[[3-(2-klorofenil)-5-metilisoksazol-4-yl]carbonil]amino]metil]-5,5-dimetiltiazolidina-4-karboksilat (asam penisilat dari kloksasilin).



C. Asam (2S,5R,6R)-6-amino-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat (asam aminopenisilat).



D. Asam 3-(2-klorofenil)-5-metilisoksazola-4-karboksilat.



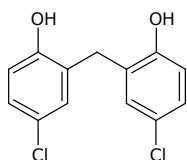
- E. (2S,5R,6R)-6-[[[(2S,5R,6R)-6-[[[3-(2-klorofenil)-5-metilisoksazol-4-il]karbonil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karbonil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat (6-APA kloksasilin amida).

### Khasiat

Antibiotik.

## Diklorofen

*Dichlorophen*



$C_{13}H_{10}Cl_2O_2$

BM: 269,1

[97-23-4]

### Definisi

4,4'dikloro-2,2'metilendifenol.

Mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari  $C_{13}H_{10}Cl_2O_2$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau sedikit krem.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, sangat larut dalam eter, mudah larut dalam etanol.

### Identifikasi

- Serapan cahaya, pada panjang gelombang 220—350 nm dari larutan 0,002% b/v dalam natrium hidroksida 0,1 M, menunjukkan dua serapan maksimum pada panjang gelombang 245 nm dan 304 nm sekitar 1,3 dan 0,54.
- Larutkan 0,2 g dalam campuran 5 ml air dan 5 ml natrium hidroksida 5 M, dinginkan dalam es dan tambah 1 ml campuran larutan natrium nitrit dengan larutan dingin (mengandung 0,12 ml anilin dalam campuran 4 ml air dan 1 ml asam hidroklorida) yang disiapkan dengan segera.
- Campur 0,5 g dengan 2 g natrium karbonat anhidrat, dinginkan, ekstrak residu dengan air dan saring. Hasil saringan memberikan reaksi klorida.
- Suhu lebur 175°C.

**Klorida.** Larutkan 1 g dalam 2 ml etanol (96%),

encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml, diamkan selama 5 menit dan saring. Pada 15 ml hasil saringan memenuhi uji batas klorida (350 ppm).

**Sulfat.** Pada 0,8 g tambah 16 ml air, saring dan encerkan 5 ml hasil saringan dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas sulfat (600 ppm).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Standar ketidakmurnian diklorofen 1,0% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (2).** Zat uji 1,0% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (3).** 4-klorofenol 0,001% b/v dalam fase gerak.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 10  $\mu$ m (Spherisorb ODS 1), ukuran 20 cm x 5 mm, atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Fase gerak.** Campuran 25 volume air dan 1 volume asam asetat glasial dan 75 metanol metanol.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2), area puncak lain pada 4-klorofenol tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) (0,1%). Kandungan dari 4,4'-dikloro-2,2'-(2-hidroksi-4-kloro-m-xilen- $\alpha,\alpha'$ -diil)difenol dalam zat uji tidak lebih dari 8,0% b/b dan jumlah kandungan dari ketidakmurnian lain, selain 4-klorofenol, tidak lebih besar dari 2,0% b/b dihitung dengan kandungan 4,4'-dikloro-2,2'-hidroksi-4-kloro-m-xilen- $\alpha,\alpha'$ -diil)difenol dalam standar ketidakmurnian diklorofen.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0% pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.

### Penetapan kadar

Lakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan dengan metode spektrofotometer menggunakan larutan: Larutkan dan encerkan sediaan setara 0,1 g diklorofen dalam natrium hidroksida 0,1 N sampai batas volume 100 ml, sentrifus. Pada 10 ml supernatan, encerkan dengan natrium hidroksida 0,1 N sampai batas volume 100 ml. Pada 20 ml larutan, encerkan dengan natrium hidroksida 0,1 N sampai batas volume 100 ml. Ukur serapan pada panjang gelombang 304 nm.
- Larutkan 0,5 g dalam 20 ml propan-2-ol dan lakukan titrasi bebas air. Gunakan tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M sebagai penitar dan tentukan titik akhir secara potensiometrik. Setiap ml tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M setara dengan 26,91 mg dari  $C_{13}H_{10}Cl_2O_2$ .

### Khasiat

Obat cacing.



## Diklorofen Tablet

### Definisi

Diklorofen tablet mengandung diklorofen.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut:

Mengandung diklorofen tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

- Serapan cahaya, pada panjang gelombang 220–350 nm dari larutan 0,002% b/v dalam natrium hidroksida 0,1 M, menunjukkan dua serapan maksimum pada panjang gelombang 245 nm dan 304 nm sekitar 1,3 dan 0,54.
- Larutkan 0,2 g dalam campuran 5 ml air dan 5 ml natrium hidroksida 5 M, dinginkan dalam es dan tambah 1 ml campuran larutan natrium nitrit dengan larutan dingin (mengandung 0,12 ml anilin dalam campuran 4 ml air dan 1 ml asam hidroklorida) yang disiapkan dengan segera.
- Campur 0,5 g dengan 2 g natrium karbonat anhidrat, dinginkan, ekstrak residu dengan air dan saring. Hasil saringan memberikan reaksi klorid.
- Suhu lebur 175°C.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Standar ketidakmurnian diklorofen 1,0% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (2).** Zat uji 1,0% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (3).** 4-klorofenol 0,001% b/v dalam fase gerak.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 10 µm (Spherisorb ODS 1), ukuran 20 cm x 5 mm, atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Fase gerak.** Campuran 25 volume air dan 1 volume asam asetat glasial dan 75 metanol metanol.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2), area puncak lain pada 4-klorofenol tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) (0,1%). Kandungan dari 4,4'-dikloro-2,2'-(2-hidroksi-4-kloro-m-xilen- $\alpha,\alpha'$ -diil)difenol dalam zat uji tidak lebih dari 8,0% b/b dan jumlah kandungan dari ketidakmurnian lain, selain 4-klorofenol, tidak lebih besar dari 2,0% b/b dihitung dengan kandungan 4,4'-dikloro-2,2'-hidroksi-4-kloro-m-xilen- $\alpha,\alpha'$ -diil)difenol dalam standar ketidakmurnian diklorofen.

### Penetapan kadar

Lakukan dengan salah satu metode berikut

- Lakukan dengan metode spektrofotometer menggunakan larutan: Larutkan dan encerkan sediaan setara 0,1 g diklorofen dalam natrium hidroksida

0,1 M sampai batas volume 100 ml, sentrifus. Pada 10 ml supernatan, encerkan dengan natrium hidroksida 0,1 N sampai batas volume 100 ml. Pada 20 ml larutan, encerkan dengan natrium hidroksida 0,1 N sampai batas volume 100 ml. Ukur serapan pada panjang gelombang 304 nm.

- Larutkan 0,5 g dalam 20 ml propan-2-ol dan lakukan titrasi bebas air. Gunakan tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M dan tentukan titik akhir secara potensiometrik. Setiap ml tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M setara dengan 26,91 mg dari  $C_{13}H_{10}Cl_2O_2$ .

### Penyimpanan

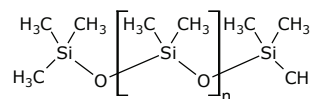
Dalam wadah kedap dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) indikasi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

## Dimetikon

*Dimeticone*



[9006-75-9]

### Definisi

Dimetikon adalah poli(dimetilsiloksan) yang diperoleh dengan menghidrolisis dan polikondensasi diklorodimetilsilan serta klorotrimetilsilan. Perbedaan dari tingkat dimetikon ada pada bilangan yang menunjukkan kekentalan nominal. Derajat polimerisasi ( $n = 20$  ke/pada 400) seperti itu menunjukkan kekentalan kinematik secara nominal antara  $20 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  dan  $1300 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . Dimetikon dengan kekentalan nominal  $50 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  atau lebih rendah untuk penggunaan hanya obat luar.

### Karakteristik

**Pemerian.** Cairan jernih tidak berwarna dengan berbagai kekentalan.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, sangat sukar larut hingga praktis tidak larut dalam etanol, dapat menyatu dengan etil asetat, metil etil keton dan toluen.

### Identifikasi

- Diidentifikasi oleh kekentalan kinematiknya pada suhu 25°C (lihat uji).
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar dimetikon. Daerah spektrum dari  $850 \text{ cm}^{-1}$  hingga  $750 \text{ cm}^{-1}$  tidak di perhitungkan.
- Panaskan 0,5 g dalam tabung dengan nyala api kecil sampai uap putih mulai tampak. Balikkan tabung di atas tabung ke-2 berisi 1 ml larutan asam kromotropat, natrium (1 g/l) dalam asam sulfat sedemikian rupa sehingga uap mencapai larutan. Kocok tabung ke-2 selama 10 detik dan panaskan di atas penangas air selama 5 menit. Larutan menjadi ungu.

D. Dalam cawan platinum, siapkan abu sulfat menggunakan 50 mg. Residu merupakan serbuk putih yang memberikan reaksi silikat.

**Keasaman.** Pada 2,0 g, tambah 25 ml campuran dari volume yang sama etanol dan eter, yang sebelumnya dinetralkan terhadap 0,2 ml bromotimol biru dan aduk. Tidak lebih dari 0,15 ml natrium hidroksida 0,01 M diperlukan untuk mengubah warna menjadi biru.

**Kekentalan.** Tentukan kekentalan kinematik pada suhu 25°C. Kekentalan kinematik tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari kekentalan nominal yang dinyatakan dalam etiket.

**Minyak mineral.** Masukkan 2 g dalam tabung dan periksa dengan cahaya ultraviolet 365 nm. Fluoresensi tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan dengan kuinin sulfat 0,1 ppm dalam asam sulfat 0,005 M.

**Senyawa fenil.** Larutkan 5,0 g dengan 10 ml sikloheksan dan aduk. Serapan pada panjang gelombang 250—270 nm tidak lebih besar 0,2.

**Logam berat.** Campur dan encerkan 1,0 g sampai batas volume 20 ml dengan metilen klorida. Tambahkan 1,0 ml larutan segar ditizon (0,02 g/l) dalam metilen klorida, 0,5 ml air dan 0,5 ml campuran dari 1 volume amoniak encer serta 9 volume hidroksilamin hidroklorida (2 g/l). Pada saat bersamaan, siapkan standar sebagai berikut: Pada 20 ml metilen klorida, tambahkan 1,0 ml larutan segar ditizon (0,02 g/l) dalam metilen klorida, 0,5 ml standar timbal (10 ppm Pb) dan 0,5 ml campuran 1 volume amoniak encer serta 9 volume hidroksilamin hidroklorida (2 g/l). Segera aduk selama 1 menit. Warna merah dalam larutan tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan standar (5 ppm).

**Zat menguap.** Untuk dimetikon dengan kekentalan nominal lebih besar dari 50 mm<sup>2</sup>/s, tidak lebih dari 0,3%, ditentukan terhadap 1,00 g dengan cara pemanasan pada 150°C selama 2 jam. Lakukan uji menggunakan kaca arloji berdiameter 60 mm dan dalamnya 10 mm.

### Penandaan

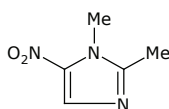
Tercantum kekentalan nominal.

### Khasiat

Anti bloat, bahan pembantu.

## Dimetridazol

*Dimetridazole*



C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

BM: 141,1

[551-92-8]

### Definisi

Dimetridazol adalah 1,2-dimetil-5-nitromidazol.

Mengandung tidak kurang dari 98% dan tidak lebih dari 101% dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk hampir putih sampai kuning kecoklatan, menjadi gelap bila tersinari. Tidak berbau atau hampir tidak berbau.

**Kelarutan.** Kurang larut dalam air dan eter, larut dalam 30 volume etanol (96%) dan dalam 5 volume kloroform.

### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar dimetridazol.
- Serapan ultraviolet dari larutan 0,002% b/v dalam metanol yang pada panjang gelombang 230—350 nm, menunjukkan maksimum hanya pada 309 nm dengan serapan sekitar 1,3.
- Larutkan 0,1 g dalam 20 ml eter, tambah 10 ml larutan 2,4,6-trinitrofenol 1% b/v dalam eter, terjadi endapan dan biarkan. Bilas endapan dengan eter dan keringkan pada suhu 105°C. Suhu lebur sekitar 160°C.

**2-metil-5-nitroimidazol.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Campur 9 volume kloroform dan 1 volume propan-2-ol.

**Larutan (1).** Zat uji dalam kloroform 2% b/v.

**Larutan (2).** Standar 2-metil-5-nitromidazol dalam kloroform 0,01% b/v.

Totolkan secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan diudara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak yang diperoleh dengan larutan (2) lebih kuat intensitas warna dari bercak yang diperoleh larutan (1).

**Air.** Tidak lebih dari 1% b/v.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.

### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode titrasi bebas air, menggunakan 0,3 g dan indikator kristal violet.

Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara 14,11 mg C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>.

### Penyimpanan

Harus terlindung dari cahaya.

### Khasiat

Antriprotozoa.

## Dimetridazol Serbuk Oral

### Definisi

Dimetridazol serbuk oral mengandung dimetridazol.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut:

Mengandung dimetridazol tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

- A. Serapan ultraviolet dari larutan 0,002% b/v dalam metanol yang pada panjang gelombang 230—350 nm, menunjukkan maksimum hanya pada 309 nm dengan serapan sekitar 1,3.
- B. Larutkan 0,1 g dalam 20 ml eter, tambah 10 ml larutan 2,4,6-trinitrofenol 1% b/v dalam eter, terjadi endapan dan biarkan. Bilas endapan dengan eter dan keringkan pada suhu 105°C. Suhu lebur sekitar 160°C.

**Penetapan kadar**

Lakukan dengan metode titrasi bebas air, menggunakan 0,3 g dan indikator kristal violet. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara 14,11 mg C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>.

**Penyimpanan**

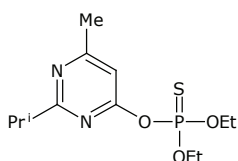
Dalam wadah, kedap dan terlindung dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) indikasi, 3) Kadaluwarsa 4) Kondisi penyimpanan.

## Dimpilat

*Dimpylate*

C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>PS

BM: 304,4

[333-41-5]

**Definisi**

Dimpilat adalah O,O-dietil O-(2-isopropil-6-metilpirimidin-4-il) fosforotioat.

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 101,0% C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>PS, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Larutan kental kuning-kecoklatan.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air; dapat menyatu dengan etanol (96%), eter dan kebanyakan pelarut organik.

**Identifikasi**

- A. Spektrum serapan inframerah, sesuai dengan spektrum serapan standar dimpilat.
- B. Pada penetapan kadar, kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) menunjukkan puncak dengan waktu tambat yang sama dengan dimpilat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3).

**Toluen.** Tidak lebih dari 1% v/v yang ditentukan dari uji residual pelarut.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan (1).** Zat uji 0,5% b/v dalam diklorometan.

**Larutan (2).** Zat uji: 0,5% b/v dan dietil ftalat 0,025% b/v (standar internal) dalam diklorometan.

**Larutan (3).** Zat uji 0,0020% b/v dan dietil ftalat 0,025% b/v dalam diklorometan.

**Larutan (4).** Standar dimpilat 0,5% b/v dan dietil ftalat 0,025% b/v dalam diklorometan.

**Larutan (5).** Toluen 0,01 2% v/v dalam diklorometan.

**Kolom.** Kapiler silika SE-54 ukuran 15 m × 0,32 mm atau yang sesuai, dipasangkan dengan satu pre-kolom SE-54 ukuran 0,2 m × 0,53 mm atau yang sesuai.

Injektor bersuhu kamar dan detektor 280°C.

**Laju alir.** Hidrogen 40 ml/menit dan nitrogen 50 ml/menit.

Waktu (menit)	Suhu	Keterangan
0 → 1	35°C	Isotermal
1 → 15,5	35°C → 180°C	Peningkatan secara linier 10°/menit
15,5 → 23,5	180°C	Isotermal
23,5 → 30,5	180°C → 250°C	Peningkatan secara linier 10°/menit
30,5 → 40,5	250°C	Isotermal

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3), waktu tambat standar internal sekitar 18,5 menit serta dimpilat sekitar 23 menit. Uji tidak absah kecuali jika kromatogram yang diperoleh dengan larutan (4) sesuai dengan standar dimpilat. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) mengidentifikasi puncak yang sesuai dengan 4-etoksi-2-isopropil-6-metilpirimidin, O,O,S-trietyl fosforotioat, 3-etyl-2-isopropil-6-metil-4-okso-3,4-dihidropirimidin, tetraetyl tionopirofosfat, tetraetyl ditionopirofosfat dan O,O-dietil O-(2-isopropil-6-metilpirimidin-4-il)fosfat dari kromatogram standar dimpilat. Area puncak yang sesuai dengan 4-etoksi-2-isopropil-6-metilpirimidin atau 3-etyl-2-isopropil-6-metil-4-okso-3,4-dihidropirimidin tidak lebih besar dari 2,5 kali area puncak dimpilat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) (1%), area puncak O,O,S-trietyl fosforotioat tidak lebih besar dari 1,25 kali area puncak dimpilat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) (0,5%), area puncak tetraetyl tionopirofosfat tidak lebih besar dari 0,02 kali area puncak dimpilat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) (0,02% dengan menganggap respon faktor 0,4), area puncak tetraetyl ditionopirofosfat tidak lebih besar dari 0,25 kali area puncak dimpilat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) (0,2%, menganggap faktor respon 0,5), area puncak O,O-dietil O-(2-isopropil-6-metilpirimidin-4-il)fosfat tidak lebih besar dari 0,75 kali area puncak dimpilat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) (0,3%) dan area puncak kedua yang lain tidak lebih besar dari 0,5 kali area puncak dimpilat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) (0,2%). Abaikan puncak apapun yang sesuai dengan toluen.

**Air.** Tidak lebih dari 0,1% b/b. Gunakan 2 g.

**Penetapan kadar**

Lakukan metode kromatografi gas menggunakan:

**Larutan (1).** Zat uji 0,2% b/v dalam 4-metilpentan-2-on.

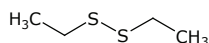
**Larutan (2).** Zat uji 0,2% b/v dan dietilftalat 0,15% b/v (standar internal) dalam 4-metilpentan-2-on.

**Larutan (3).** Standar dimpilat 0,2% b/v dan dietilftalat 0,15% b/v dalam 4-metilpentan-2-on.

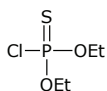
**Kolom.** Kapiler SE-54, 15 m × 0,53 mm atau yang sesuai dengan suhu 110°C yang meningkat secara linier 6°C per menit sampai 215°C dengan suhu injektor 250°C dan detektor 250°C

**Laju alir.** Gas helium 20 ml per menit dan gas nitrogen 10 ml per menit.

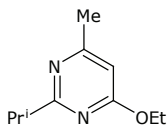
Pengujian tidak absah kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3), faktor resolusi antara puncak dimpilat dan standar internal sedikitnya 2.

**Ketidakmurnian**

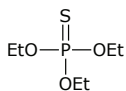
A. Dietil disulfida.



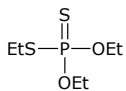
B. O,O-Dietil klorofosforotioat.



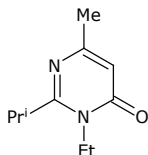
C. 4-Etoksi-2-isopropil-6-metilpirimidina.



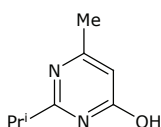
D. O,O,O-Trietil fosforotioat.



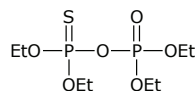
E. O,O,S-Trietil fosforotioat.



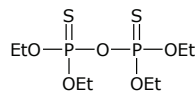
F. 3-Etil-2-isopropil-6-metil-4-okso-3,4-dihidropirimidina.



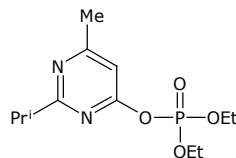
G. 4-Hidroksi-2-isopropil-6-metilpirimidina.



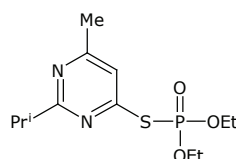
H. Tetraetil tionopirofosfat.



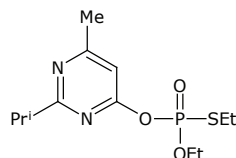
I. Tetraetil ditionopirofosfat.



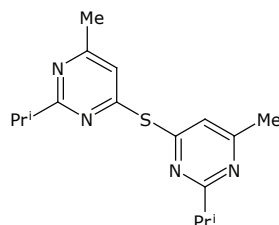
J. O,O-Dietil O-(2-isopropil-6-metilpirimidina-4-il)fosfat.



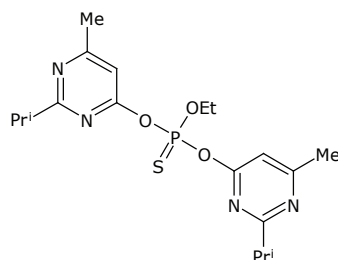
K. O,O-Dietil S-(2-isopropil-6-metilpirimidina-4-il) fosforotiofat.



L. O,S-Dietil O-(2-isopropil-6-metilpirimidina-4-il) fosforotiofat.



M. Bis(2-isopropil-6-metilpirimidina-4-yl)sulfida.



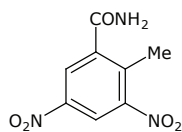
N. O-etil O,O-(2-isopropil-6-metilpirimidina-4-il) fosforotiofat.

**Khasiat**

Obat pembasmi serangga.

## Dinitolmid

*Dinitolmide*



$C_8H_7N_3O_5$

BM: 225,1

[148-01-6]

### Definisi

Dinitolmid adalah 3,5-dinitro-o-toluamida.

Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 100,5% dari  $C_8H_7N_3O_5$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk halus atau krim.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air; larut dalam aseton; sukar larut dalam kloroform, etanol (96%) dan eter.

### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah, sesuai dengan spektrum serapan standar dinitolmid.
- Panaskan 1 g dengan 20 ml asam sulfat 9 M dalam refluks kondensor selama 1 jam, dinginkan, tambah 50 ml air dan saring. Suhu lebur residu (bilas dengan air dan keringkan pada suhu 105°C) sekitar 205°C.

**Nilai asam.** Tidak lebih dari 5,0, menggunakan 0,5 g dan 50 ml etanol (96%) sebagai pelarut.

**Suhu lebur.** 177°—181°C.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel F<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Campur 5 volume asam asetat glasial, 10 volume metanol dan 85 volume kloroform.

**Larutan (1).** Zat uji 2,5% b/v dalam aseton.

**Larutan (2).** Zat uji 0,0125% b/v dalam aseton.

**Larutan (3).** Asam o-toluat 0,0125% b/v dalam aseton.

Totolkan secara terpisah 10 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara, periksa di bawah ultraviolet (254 nm). Semprot dengan larutan titanium(III) klorida encer (1 dalam 5 dengan air), panaskan pada suhu 100°C selama 5 menit dan semprotkan dengan dimetilaminobenzaldehid-alkohol. Periksa dengan cahaya ultraviolet, bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (1) (0,5%). Bercak kedua pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (0,5%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0% keringkan pada suhu 105°C. Gunakan 1 g.

### Penetapan kadar

Larutkan dan encerkan 0,15 g dalam aseton sampai volume 50 ml. Pada 10 ml larutan tambah 10 ml asam asetat

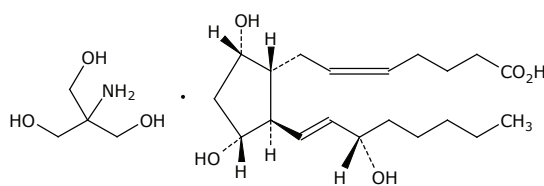
glasial dan 15 ml natrium asetat 40% b/v, dan alirkan uap karbondioksida ke dalam larutan. Tambah 25 ml titanium(III) klorida 0,1 M dan biarkan selama 5 menit. Tambah 10 ml asam hidroklorida, 10 ml air, dan 1 ml larutan kalium tiosianat 10% b/v. Titrasi dengan amonium besi(III) sulfat 0,1 M sampai larutan tidak berwarna kemudian menjadi orange. Titrasi blanko perbedaan jumlah titran blanko dan zat uji adalah jumlah titran yang diperlukan. Setiap ml titanium(III) klorida 0,1 M setara dengan 1,876 mg.

### Khasiat

Koksidostat.

## Dinopros Trometamol

*Dinoprost Trometamol*



$C_{20}H_{34}O_5$ ,  $C_4H_{11}NO_3$

BM: 475,6

[38562-01-5]

### Definisi

Dinopros trometamol mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 102,0% dari trometamol (Z)-7-[(1R,2R,3R,5S)-3,5-dihidroks-2-[(E)-(3S)-3-hidroksiok-1-enil]siklopentil]hep-5-enoat (PGF<sub>2a</sub>), dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air, mudah larut dalam alkohol dan praktis tidak larut dalam asetonitril.

### Identifikasi

- Larutkan dan encerkan 0,1 g in alkohol sampai batas volume 10,0. Rotasi jenis adalah +19° sampai +26°, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar dinopros trometamol.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 10,0 mg zat uji dalam campuran 23 volume asetonitril dan 77 volume air sampai batas volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Degradasikan dinopros trometamol menjadi ketidakhurnian B. Larutkan 1 mg zat uji dalam 1 ml fase gerak dan panaskan larutan di atas penangas air dengan suhu 85°C selama 5 menit dan dinginkan.

**Larutan standar (b).** Encerkan 2,0 ml larutan uji dengan campuran 23 volume asetonitril dan 77 volume air sampai batas volume 20,0 ml. Encerkan 2,0 ml larutan dengan campuran yang sama sampai batas volume 20,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 15 cm x 3,9 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 230 ml asetonitril dengan 770 ml dapar fosfat (Larutkan dan encerkan 2,44 g natrium dihidrogen fosfat dalam air sampai batas volume 1000 ml, atur pH 2,5 dengan asam fosfat).

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 200 nm.

Atur sensitivitas sistem, sehingga tinggi puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan 20  $\mu\text{l}$  larutan standar (b) adalah 25—50% skala penuh.

Injek 20  $\mu\text{l}$  larutan standar (a), waktu tambat (15R)-PGF<sub>2a</sub> (ketidakh murnian B) sekitar 55 menit; 5,6-trans-PGF<sub>2a</sub> (ketidakh murnian A) sekitar 60 menit dan dinopros sekitar 66 menit. Lanjutkan kromatografi selama 2,5 kali waktu tambat puncak utama (untuk mengelusi produk degradasi yang terbentuk selama pemanasan). Uji tidak absah, kecuali jika resolusi antara puncak ketidakh murnian A dan ketidakh murnian B adalah 1,5 dan resolusi antara puncak ketidakh murnian A dan dinopros adalah 2,0; faktor simetri untuk puncak ketidakh murnian A dan ketidakh murnian B adalah kurang 1,2. Jika diperlukan, atur komposisi fase gerak dengan meningkatkan jumlah asetonitril untuk menurunkan waktu tambat.

Injek secara terpisah, masing-masing 20  $\mu\text{l}$  larutan uji dan larutan standar (b). Lanjutkan kromatografi untuk larutan uji selama 10 menit setelah elusi puncak utama. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, area ketidakh murnian A tidak lebih besar dari 2 kali area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b) (2%); area dari puncak lain, yang merupakan bagian puncak utama dan puncak ketidakh murnian A, tidak lebih besar dari 1,5 kali area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,5%) dan tidak lebih dari satu puncak mempunyai area lebih besar dari setengah area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b) (2%). Abaikan puncak fase gerak dan puncak trometamol (waktu tambat sekitar 1,5 menit) dan juga puncak dengan area kurang dari 0,05 kali area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b).

**Air.** Tidak lebih dari 1,0%, gunakan 0,5 g dengan penetapan cara semi-mikro.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 10,0 mg zat uji dalam campuran 23 volume asetonitril dan 77 volume sampai batas volume 10,0 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 10,0 mg standar dinopros trometamol dalam campuran 23 volume asetonitril dan 77 volume sampai batas volume 10,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil, 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 15 cm x 3,9 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 230 ml asetonitril dengan 770 ml dapar fosfat (Larutkan dan encerkan 2,44 g natrium dihidrogen fosfat dalam air sampai batas volume 1000 ml, atur pH 2,5 dengan asam fosfat).

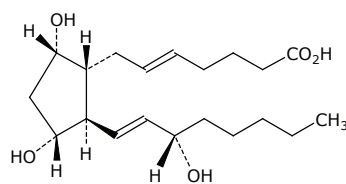
**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 200 nm.

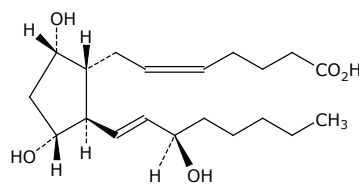
Atur sensitivitas sistem, sehingga tinggi puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan 20  $\mu\text{l}$  larutan standar adalah 70—90% skala penuh. Waktu tambat dinopros adalah sekitar 23 menit.

Injek larutan standar 6 kali. Uji tidak absah, kecuali jika simpangan baku area puncak dinopros adalah 2,0%. Injek 20  $\mu\text{l}$  larutan uji.

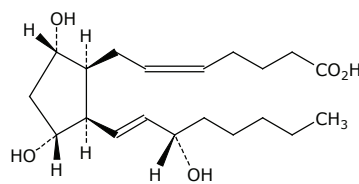
#### Ketidakh murnian



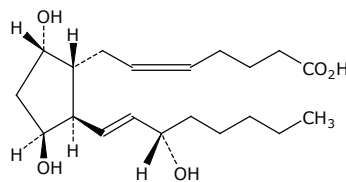
- A. Asam (E)-7-[(1R,2R,3R,5S)-3,5-dihidroksi-2-[(E)-(3S)-3-hidroksioktus-1-enil]siklopentil]heptana-5-enoat ((5E)-PGF<sub>2a</sub>; 5,6-trans-PGF<sub>2a</sub>).



- B. Asam (Z)-7-[(1R,2R,3R,5S)-3,5-dihidroksi-2-[(E)-(3R)-3-hidroksioktus-1-enil]siklopentil]heptana-5-enoat ((15R)-PGF<sub>2a</sub>; 15-epiPGF<sub>2a</sub>).



- C. Asam (Z)-7-[(1S,2R,3R,5S)-3,5-dihidroksi-2-[(E)-(3S)-3-hidroksioktus-1-enil]siklopentil]heptana-5-enoat ((8S)-PGF<sub>2a</sub>; 8-epiPGF<sub>2a</sub>).



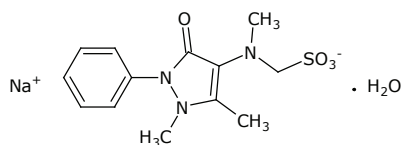
- D. Asam (Z)-7-[(1R,2R,3S,5S)-3,5-dihidroksi-2-[(E)-(3S)-3-hidroksioktus-1-enil]siklopentil]heptana-5-enoat (11b-PGF<sub>2a</sub>; 11-epiPGF<sub>2a</sub>).

#### Khasiat

Induksi kontraksi otot uterus.

## Dipiron

*Dipyrrone*



$C_{13}H_{16}N_3NaO_4S \cdot H_2O$       BM: 351,4      [5907-38-0]

### Definisi

Dipiron atau natrium metamizol mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5% dari natrium[(1,5-dimetil-3-okso-2-fenil-2,3-dihidro-1H-pirazol-4-yl)-N-metilamino]metanesulfonat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air, larut dalam alkohol.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, D.

Identifikasi kedua: B, C, D.

- A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar natrium metamizol.
- B. Larutkan 50 mg dalam 1 ml larutan hidrogen peroksida kuat. Terbentuk warna biru dan memudar dengan cepat kemudian memerah dalam beberapa menit.
- C. Larutkan 0,10 g dalam 1,5 ml air dan 1,5 ml asam hidroklorida encer. Basahi kertas saring dengan larutan 20 mg kalium iodat dalam 2 ml larutan kanji, tempatkan kertas saring tersebut di atas tabung larutan uji. Panaskan hingga uap sulfur dioksida merubah warna kertas saring menjadi biru. Setelah pemanasan selama 1 menit, masukkan batang kaca dan beberapa tetes larutan asam kromotropat (10 g/l), garam natrium dalam asam sulfat dan tempatkan di mulut tabung. Dalam waktu 10 menit, terbentuk warna biru violet.
- D. Pada 0,5 ml larutan S, memberikan reaksi natrium.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air bebas karbondioksida sampai volume 40 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih segera setelah dibuat dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar BY<sub>6</sub>.

**Keasaman-kebasaaan.** Pada 5 ml larutan S, tambahkan 0,1 ml larutan fenoltalein. Larutan tidak berwarna. Tidak lebih dari 0,1 ml natrium hidroksida 0,02 M diperlukan untuk mengubah warna indikator menjadi merah muda.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50,0 mg zat uji dengan metanol sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10,0 mg

metamizol ketidakmurnian A dengan metanol sampai batas volume 20,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dengan metanol sampai batas volume 20,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 40 mg natrium metamizol dengan metanol sampai batas volume 20,0 ml.

**Larutan standar (d).** Ambil 10 ml larutan standar (c) dan didihkan dalam refluks kondensor selama 10 menit. Dinginkan pada suhu kamar dan encerkan dengan metanol sampai batas volume 20,0 ml.

**Larutan standar (e).** Pada 6 ml larutan standar (a) tambahkan 1 ml larutan standar (c).

**Kolom.** Oktadesilsilil 5 $\mu$ m; 25 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Fase gerak.** Campur dari 28 volume metanol dan 72 volume dapar (campur 1000 volume natrium dihidrogen fosfat 6,0 g/l dan 1 volume trietilamin pH 7,0 dengan larutan natrium hidroksida pekat).

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Zat yang terelusi.** Metamizol ketidakmurnian A, ketidakmurnian B, ketidakmurnian C dan ketidakmurnian D.

**Injek.** 10  $\mu$ l dari larutan standar (b). Lakukan penyesuaian sensitivitas sistem sedemikian rupa sehingga ketinggian puncak utama pada kromatogram yang diperoleh adalah sedikitnya 50% dari skala.

**Injek.** 10  $\mu$ l dari larutan standar (d). kromatogram menunjukkan dua puncak utama metamizole dan ketidakmurnian C.

**Injek.** 10  $\mu$ l dari larutan standar (e). Uji tidak absah, kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh antara puncak ketidakmurnian A dan metamizole adalah sedikitnya 2,5.

**Injek.** 10  $\mu$ l larutan uji dan larutan standar (b) dan lanjutkan proses kromatografi sampai 3,5 kali waktu tambat metamizol.

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji: area puncak ketidakmurnian C tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%), area puncak yang merupakan bagian dari puncak utama ketidakmurnian C tidak lebih besar dari 0,4 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,2%).

Jumlah dari semua area puncak, yang merupakan bagian dari puncak utama, tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

Abaikan puncak dengan area kurang dari 0,05 kali puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b).

**Sulfat.** Larutkan dan encerkan 0,150 g dengan air suling sampai batas volume 15 ml. Larutan memenuhi

uji batas untuk sulfat (0,1%).

**Logam berat.** Larutkan dan encerkan 2,0 g dengan air sampai batas volume 20 ml. Pada 12 ml larutan, memenuhi uji batas uji A untuk logam berat (20 ppm). Gunakan standar timbal (2 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Antara 4,9—5,3%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C. Gunakan 1 g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,200 g dalam 10 ml asam hidroklorida 0,01 M yang sudah didinginkan dalam air es. Lakukan titrasi dengan iodium 0,05 M, aduk.

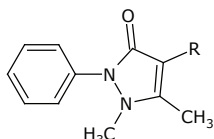
Pada akhir titrasi tambah 2 ml larutan kanji dan titrasi kembali sampai warna biru tetap sedikitnya selama 2 menit. Suhu larutan selama titrasi tidak melebihi 10°C.

Setiap ml iodium 0,05 M setara dengan 16,67 mg  $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S$ .

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakhurnian



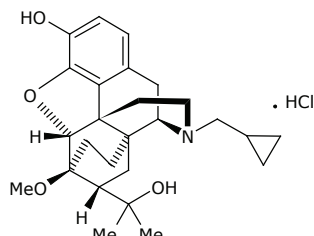
- R = NHCHO: 4-formilamino-1,5-dimetil-2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-on.
- R = NH<sub>2</sub>: 4-amino-1,5-dimetil-2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-on.
- R = NHCH<sub>3</sub>: 4-metilamino-1,5-dimetil-2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-on.
- R = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>: 4-dimetilamino-1,5-dimetil-2-fenil-1,2-dihidro-3H-pirazol-3-on.

#### Khasiat

Analgesik.

## Diprenorfin Hidroklorida

*Diprenorphine Hydrochloride*



$C_{26}H_{35}NO_4 \cdot HCl$

BM: 462,1

[16808-86-9]

#### Definisi

Diprenorfin hidroklorida adalah N-siklopropil metil-7,8-dihidro-7 $\alpha$ -(1-hidroksi-1-metiletil)-6-O-metil-6 $\alpha$ ,14 $\alpha$ -etanonormorfin hidroklorida. Mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0%

dari  $C_{26}H_{35}NO_4 \cdot HCl$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih

**Kelarutan.** Agak sukar larut dalam air, sukar larut dalam etanol (96%), sangat sukar larut dalam kloroform, praktis tidak larut dalam eter.

#### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar diprenorfin hidroklorida.
- Serapan cahaya, pada panjang gelombang 230—350 nm larutan 0,02% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M, serapan maksimum pada 287 nm sekitar 0,70.
- Serapan cahaya, pada panjang gelombang 230—350 nm larutan 0,02% b/v dalam natrium hidroksida 0,1 M, serapan maksimum pada 301 nm sekitar 1,1.
- Menunjukkan reaksi klorida.

**Keasaman.** Larutan 2,0% b/v. pH 4,5—6,0.

**Rotasi jenis.** -97,0° sampai -107,0°. Larutkan 0,5 g dalam metanol sampai 25 ml, dihitung terhadap zat kering.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 1 volume air, 5 volume metanol, 30 volume butan-2-on, 80 volume aseton dan 100 volume sikloheksan.

**Larutan (1).** Zat uji 2,0% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Zat uji 0,020% b/v dalam metanol.

Totolkan secara terpisah 20  $\mu$ l dari setiap larutan. Tambahkan pada setiap titik 10  $\mu$ l campuran 4 volume metanol dan 1 volume amoniak 13,5 M. Angkat lempeng, keringkan di udara dan semprot dengan larutan 1% b/v iodium dalam metanol.

Bercak kedua pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (1%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 2,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.

#### Penetapan kadar

Lakukan titrasi bebas air, menggunakan 0,5 g, tambah 7 ml raksa (II) asetat dan menggunakan kristal violet sebagai indikator. Setiap 1 ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 46,21 mg  $C_{26}H_{35}NO_4 \cdot HCl$ .

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Antagonis-opioid analgesik.



## Diprenorfin Injeksi

### Definisi

Diprenorfin injeksi adalah larutan steril diprenorfin hidroklorida dalam air untuk injeksi, yang mengandung metiltioninium klorida (metilen biru).

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung diprenorfin,  $C_{26}H_{35}NO_4$  tidak kurang 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis menggunakan:

**Lempeng.** Silika GF<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Campuran 10 volume dietilamin, 20 volume asam asetat dan 70 volume toluen.

**Larutan (1).** Sediaan setara 0,5 mg diprenorfin, tambah 3 ml amonia 5M, aduk dan ekstraksi dua kali masing dengan 5 ml kloroform. Kocok ekstrak kloroform, dengan 1 g natrium sulfat anhidrat dan saring. Uapkan sampai kering menggunakan rotavapor dan larutkan residu dalam 0,4 ml kloroform.

**Larutan (2).** Standar diprenorfin 0,115% b/v dalam kloroform.

Totolkan secara terpisah 10 µl dari setiap larutan. Tambahkan pada titik penotolan larutan (2), 10 µl campuran 4 volume metanol dan 1 volume amoniak 13,5M. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Semprot setengah lempeng dengan campuran 5 volume asam kloroplatinat, 35 volume kalium iodida encer dan 60 volume aseton. Semprot setengah berikutnya dengan campuran 1 volume besi (III) klorida dan 1 volume kalium besi (III) heksa sianida encer. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai pada tempat, warna dengan bercak yang diperoleh larutan (2).

**Keasaman.** pH 3,5—4,5.

### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Sediaan mengandung diprenorfin sama atau lebih dari 0,1% b/v:**

Larutkan 50 mg fenolftalein (standar internal) dalam metanol sampai batas volume 20 ml (larutan A).

**Larutan (1).** Pada 2 ml larutan A, tambah 2 ml larutan standar diprenorfin 0,30% b/v dalam metanol dan uapkan. Pada residu tambah 1 ml campuran 8 volume dimetilformamid, 2 volume N,O-bis (trimetilsilil) asetamida dan 1 volume trimetilklorosilan, biarkan selama 30 menit.

**Larutan (2).** Lakukan proses yang sama dengan larutan (3), hilangkan penambahan larutan A.

**Larutan (3).** Tambah 2 ml amonia 5M pada satu

volume yang mengandung 6 mg diprenorfin dan ekstraksi tiga kali, masing-masing 7 ml kloroform. Pada ekstrak, tambah 2 ml larutan A, kocok dengan 2 g natrium sulfat anhidrat dan saring. Uapkan hasil saringan sampai kering menggunakan rotavapor; perlakukan residu sebagaimana diuraikan untuk larutan (1).

**Kolom.** Gelas SE 30 (80—100 mesh), ukuran 15 cm × 4 mm, atau yang sesuai, suhu 245°C.

Hitung kadar dari  $C_{26}H_{35}NO_4$  menggunakan kadar  $C_{26}H_{35}NO_4$  standar diprenorpin.

**Sediaan mengandung diprenorfin kurang dari 0,1% b/v:**

Lakukan penetapan seperti yang tertera di atas, tetapi larutkan 50 mg fenolftalein (standar internal) dengan metanol sampai batas volume 100 ml (larutan A) dan gunakan larutan berikut.

**Larutan (1).** Tambah 2 ml larutan A pada 5 ml larutan standar diprenorfin 0,027% b/v dalam metanol dan uapkan menggunakan rotavapor, pada residu tambah 1 ml campuran dari 8 volume dimetilformamid, 2 volume N,O-bis (trimetilsilil) asetamida dan 1 volume trimetilklorosilan, biarkan selama 30 menit.

**Larutan (2).** Lakukan proses yang sama dengan larutan (3) tetapi hilangkan penambahan larutan A.

**Larutan (3).** Pada sediaan yang mengandung 1,36 mg diprenorfin, tambah 2 ml amonia 5M dan ekstraksi tiga kali, masing-masing 10 ml kloroform. Pada ekstrak tambah 2 ml larutan A, kocok dengan 3 g natrium sulfat anhidrat, saring dan uapkan hasil saringan sampai kering, perlakukan residu seperti larutan (1).

### Penyimpanan

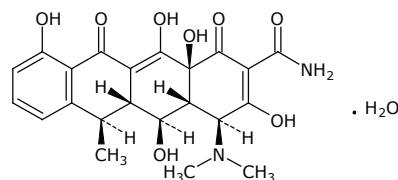
Dalam wadah tertutup kedap dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Doksisiklin Monohidrat

*Doxycycline Monohydrate*



$C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot H_2O$

BM: 462,5

[17086-28-1]

### Definisi

Doksisiklin monohidrat adalah (4S,4aR,5S,5aR,6R,12aS)-4-(dimetilamino)-3,5,10,12,12a-pentahidroksi-6-metil-1,11-dioksa-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidrotetrasen-2-karboksamid monohidrat. Diperoleh dari oksitetrasiklin atau metasiklin dengan cara yang sesuai.

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 102,0% dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal kuning.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air dan alkohol. Larut dalam asam, alkali hidroksida dan karbonat encer.

### Identifikasi

A. Periksa kromatogram yang diperoleh pada penetapan potensi/kadar.

**Hasil.** Puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, mempunyai waktu tambat dan ukuran yang sama dengan puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a).

B. Pada 2 mg tambahkan 5 ml asam sulfat. Terbentuk warna kuning.

C. Larutkan 25 mg dalam campuran 0,2 ml asam nitrat encer dan 1,8 ml air. Larutan tidak memberikan reaksi klorida.

**pH.** 5,0—6,5. Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 10 ml.

**Rotasi jenis.**  $-113^{\circ}$  sampai  $-130^{\circ}$  (zat anhidrat). Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam campuran 0,5 volume asam hidroklorida dan 99,5 volume metanol sampai batas volume 25,0 ml. Segera lakukan pengukuran.

**Serapan cahaya.** Antara 325—363 nm menunjukkan maksimum pada panjang gelombang 349 nm (zat anhidrat). Larutkan dan encerkan 25,0 mg dalam campuran 0,5 volume asam hidroklorida dan 99,5 volume metanol sampai volume 50,0 ml. Encerkan 2,0 ml larutan dalam campuran 0,5 volume asam hidroklorida dan 99,5 volume metanol sampai batas volume 100,0 ml. Ukur serapan dalam rentang 1 jam.

**Serapan cahaya ketidakmurnian.** Serapan cahaya maksimum pada panjang gelombang 490 nm adalah 0,07 (zat anhidrat). Larutkan 0,10 g dalam campuran 0,5 volume asam hidroklorida dan 99,5 volume metanol sampai volume 10,0 ml. Ukur serapan dalam rentang 1 jam.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 20,0 mg zat uji dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai 25,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20,0 mg standar doksisiklin hiklat dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 20,0 mg standar 6-epidoksisiklin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 20,0 mg standar metasiklin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (d).** Campurkan 4,0 ml larutan standar (a), 1,5 ml larutan standar (b) dan 1,0 ml larutan standar (c) dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (e).** Campurkan 2,0 ml larutan standar (b) dan 2,0 ml larutan standar (c) dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Kopolimer stiren-divinilbenzen ( $8 \mu\text{m}$ ), ukuran 0,25 m x 4,6 mm, suhu  $60^{\circ}\text{C}$ .

**Fase gerak.** Larutkan dan encerkan 60,0 g 2-metil-2-propanol dalam 200 ml air, tambah 400 ml larutan dapar fosfat pH 8,0, 50 ml tetrabutylamonium hidrogen sulfat (10 g/l, atur pH 8,0 dengan natrium hidroksida) dan 10 ml larutan natrium edetat (40 g/l, atur pH 8,0 dengan natrium hidroksida) dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000,0 ml.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek.** 20  $\mu\text{l}$  larutan uji dan larutan standar (d) dan (e).

**Waktu tambat relatif terhadap doksisiklin.** Ketidakh murnian E sekitar 0,2, ketidakh murnian D sekitar 0,3, ketidakh murnian C sekitar 0,5, ketidakh murnian F sekitar 1,2.

### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (d).** Resolusi minimum 1,25 antara puncak ketidakh murnian B (puncak ke-1) dan ketidakh murnian A (puncak ke-2); minimum 2,0 antara puncak ketidakh murnian A dan doksisiklin (puncak ke-3). Jika diperlukan, lakukan penyesuaian 2-metil-2-propanol dalam fase gerak.

**Faktor simetri.** Maksimum 1,25 untuk puncak doksisiklin.

### Batas

**Ketidakh murnian A.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e) (2,0%).

**Ketidakh murnian B.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e) (2,0%).

**Ketidakh murnian lain.** Tidak lebih dari 0,25 kali area puncak ketidakh murnian A pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e) (0,5%).

**Abaikan batas.** 0,05 kali area puncak ketidakh murnian A pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e) (0,1%).

**Logam berat.** Tidak lebih dari 50 ppm. Pada 0,5 g memenuhi uji batas. Gunakan 2,5 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Air.** 3,6%—4,6%. Gunakan 0,2 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih 0,4%. Gunakan 1,0 g.

### Penetapan potensi/kadar

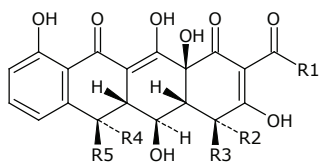
Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis dengan cara: injek larutan uji dan larutan standar (a).

**Penyimpanan**

Dilindungi dari cahaya.

**Ketidakh murnian**

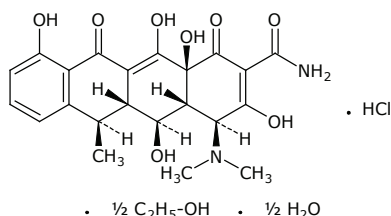
- A. R1 = NH<sub>2</sub>, R2 = R5 = H, R3 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R4 = CH<sub>3</sub>: (4S,4aR,5S,5aR,6S,12aS)-4-(dimetilamino)-3,5,10,12,12a-pentahidroksi-6-metil-1,11-diokso-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidrotetrasena-2-karboksamida (6-epidoksisiklin).
- B. R1 = NH<sub>2</sub>, R2 = H, R3 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R4 + R5 = CH<sub>2</sub>: (4S,4aR,5S,5aR,12aS)-4-(dimetilamino)-3,5,10,12,12a-pentahidroksi-6-metilen-1,11-diokso-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidrotetrasena-2-karboksamida (metasiklin).
- C. R1 = NH<sub>2</sub>, R2 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R3 = R4 = H, R5 = CH<sub>3</sub>: (4R,4aR,5S,5aR,6R,12aS)-4-(dimetilamino)-3,5,10,12,12a-pentahidroksi-6-metil-1,11-diokso-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidrotetrasena-2-karboksamida (4-epidoksisiklin).
- D. R1 = NH<sub>2</sub>, R2 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R3 = R5 = H, R4 = CH<sub>3</sub>: (4R,4aR,5S,5aR,6S,12aS)-4-(dimetilamino)-3,5,10,12,12a-pentahidroksi-6-metil-1,11-diokso-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidrotetrasena-2-karboksamida (4-epi-6-epidoksisiklin).
- E. R1 = NH<sub>2</sub>, R2 = H, R3 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R4 = OH, R5 = CH<sub>3</sub>: Oksitetrasiklin.
- F. R1 = CH<sub>3</sub>, R2 = R4 = H, R3 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R5 = CH<sub>3</sub>: (4S,4aR,5S,5aR,6R,12aS)-2-acetyl-4-(dimetilamino)-3,5,10,12,12a-pentahidroksi-6-metil-4a,5a,6,12a-tetrahidrotetrasena-1,11(4H,5H)-dion (2-asetil-2-dekarbamoidoksisiklin).

**Khasiat**

Antibiotik.

**Doksisiklin Hiklat**

*Doxycycline Hyclate*



C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>, HCl, ½C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O, ½H<sub>2</sub>O

BM: 512,9

[24390-14-5]

**Definisi**

Doksisiklin hiklat adalah hidroklorida hemietanol hemihidrat dari (4S,4aR,5S,5aR,6R,12aS)-4-(dimetilamino)-3,5,10,12,12a-pentahidroksi-6-metil-1,11-

diokso-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidrotetrasena-2-karboksamid. Diperoleh dari oksitetrasiklin atau metasiklin dengan cara yang sesuai.

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 102,0% dari C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (zat anhidrat dan bebas etanol).

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal kuning, higroskopik.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air dan metanol. Agak sukar larut dalam etanol (96%). Larut dalam alkali hidroksida dan karbonat encer.

**Identifikasi**

A. Periksa kromatogram yang diperoleh pada penetapan potensi/kadar.

**Hasil.** Puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, mempunyai waktu tambat yang sama dengan puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a).

B. Pada 2 mg, tambah 5 ml asam sulfat. Terbentuk warna kuning.

C. Larutan memberikan reaksi klorid.

**pH.** 2,0—3,0. Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 10 ml.

**Rotasi jenis.** -105° sampai -120° (zat anhidrat dan bebas etanol). Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam campuran 1 volume asam hidroklorida dan 99 volume metanol sampai volume 25,0 ml. Segera lakukan pengukuran.

**Serapan cahaya.** Antara 300—335 nm menunjukkan maksimum pada panjang gelombang 349 nm (zat anhidrat dan bebas etanol). Larutkan dan encerkan 25,0 mg dalam campuran 1 volume asam hidroklorida 1 M dan 99 volume metanol sampai volume 25,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan campuran 1 volume asam hidroklorida 1 M dan 99 volume metanol sampai batas volume 100,0 ml. Ukur serapan dalam rentang 1 jam.

**Serapan cahaya ketidakh murnian.** Serapan cahaya maksimum pada panjang gelombang 490 nm adalah 0,07 (zat anhidrat). Larutkan 0,10 g dalam campuran 1 volume asam hidroklorida 1 M dan 99 volume metanol sampai volume 10,0 ml. Ukur serapan dalam rentang 1 jam.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 20,0 mg zat uji dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20,0 mg standar doksisiklin hiklat dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 20,0 mg standar 6-epidoksisiklin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 20,0 mg standar metasiklin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (d).** Campurkan 4,0 ml larutan standar (a), 1,5 ml larutan standar (b) dan 1,0 ml larutan standar (c) dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (e).** Campurkan 2,0 ml larutan standar (b) dan 2,0 ml larutan standar (c) dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 100,0 ml.

**Kolom.** Kopolimer stiren-divinilbenzen (8  $\mu\text{m}$ ), ukuran 0,25 m x 4,6 mm, suhu 60°C.

**Fase gerak.** Larutkan dan encerkan 60,0 g 2-metil-2-propanol dengan 200 ml air, tambahkan 400 ml larutan dapar fosfat pH 8,0, 50 ml tetrabutilamonium hidrogen sulfat (10 g/l, atur pH 8,0 dengan natrium hidroksida) dan 10 ml larutan natrium edetat (40 g/l, atur pH 8,0 dengan natrium hidroksida) dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000,0 ml.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek.** 20  $\mu\text{l}$  larutan uji dan larutan standar (d) dan (e).

**Waktu tambat relatif terhadap doksisiklin.** Ketidakh murnian E sekitar 0,2, ketidakh murnian D sekitar 0,3, ketidakh murnian C sekitar 0,5, ketidakh murnian F sekitar 1,2.

#### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (d).** Resolusi minimum 1,25 antara puncak ketidakh murnian B (puncak ke-1) dan ketidakh murnian A (puncak ke-2); minimum 2,0 antara puncak ketidakh murnian A dan doksisiklin (puncak ke-3). Jika diperlukan, lakukan penyesuaian 2-metil-2-propanol dalam fase gerak.

**Faktor simetri.** Maksimum 1,25 untuk puncak doksisiklin.

#### Batas

**Ketidakh murnian A.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e) (2,0%).

**Ketidakh murnian B.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e) (2,0%).

**Ketidakh murnian lain.** Tidak lebih dari 0,25 kali area puncak ketidakh murnian A pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e) (0,5%).

**Abaikan batas.** 0,05 kali area puncak ketidakh murnian A pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e) (0,1%).

**Etanol.** Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan standar internal.** Encerkan 0,5 ml propanol dengan air sampai batas volume 1000,0 ml.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam air sampai volume 10,0 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam larutan standar internal sampai 10,0 ml.

**Larutan standar.** Encerkan 0,5 ml etanol dengan

standar internal sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan larutan standar internal sampai volume 10,0 ml.

**Kolom.** Kopolimer etilvinilbenzen-divinilbenzen 150—180  $\mu\text{m}$ , ukuran 1,5 m x 4,0 mm, suhu 135°C dan injektor 150°C.

**Gas pembawa.** Nitrogen.

**Detektor.** Flame ionisation detector (FID), suhu 150°C.

Hitung etanol pada suhu 20°C dengan berat jenis 0,79 g/ml.

**Batas.** Etanol 4,3—6,0%.

**Logam berat.** Tidak lebih dari 50 ppm. Pada 0,5 g memenuhi uji batas. Gunakan 2,5 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Air.** 1,4%—2,8%. Gunakan 1,2 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih 0,4%. Gunakan 1,0 g.

**Endotoksin bakteri.** Tidak lebih dari 1,14 IU/mg.

#### Penetapan potensi/kadar

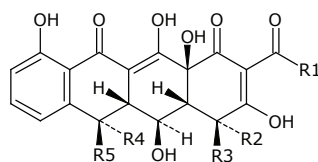
Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis dengan modifikasi berikut: injek larutan uji dan larutan standar (a).

#### Penyimpanan

Kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakh murnian



- A. R1 = NH<sub>2</sub>, R2 = R5 = H, R3 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R4 = CH<sub>3</sub>: (4S,4aR,5S,5aR,6S,12aS)-4-(dimetilamino)-3,5,10,12,12a-pentahidroksi-6-metil-1,11-diokso-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidrotetrasena-2-karboksamida (6-epidoksisiklin).
- B. R1 = NH<sub>2</sub>, R2 = H, R3 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R4 + R5 = CH<sub>2</sub>: (4S,4aR,5S,5aR,12aS)-4-(dimetilamino)-3,5,10,12,12a-pentahidroksi-6-metilen-1,11-diokso-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidrotetrasena-2-karboksamida (metasiklin).
- C. R1 = NH<sub>2</sub>, R2 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R3 = R4 = H, R5 = CH<sub>3</sub>: (4R,4aR,5S,5aR,6R,12aS)-4-(dimetilamino)-3,5,10,12,12a-pentahidroksi-6-metil-1,11-diokso-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidrotetrasena-2-karboksamida (4-epidoksisiklin).
- D. R1 = NH<sub>2</sub>, R2 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R3 = R5 = H, R4 = CH<sub>3</sub>: (4R,4aR,5S,5aR,6S,12aS)-4-(dimetilamino)-3,5,10,12,12a-pentahidroksi-6-metil-1,11-diokso-1,4,4a,

5,5a,6,11,12a-oktahidrotetrasena-2-karboksamida (4-epi-6-epidoksisiklin).

E. R1 = NH<sub>2</sub>, R2 = H, R3 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R4 = OH, R5 = CH<sub>3</sub>: Oksitetrasiklin.

F. R1 = CH<sub>3</sub>, R2 = R4 = H, R3 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R5 = CH<sub>3</sub>: (4S,4aR,5S,5aR,6R,12aS)-2-asetil-4-(dimetil-amino)-3,5,10,12,12a-pentahidroksi-6-metil-4a,5a,6,12a-tetrahidrotetrasena-1,11(4H,5H)-dion (2-asetil-2-dekarbamoidoksisiklin).

### Khasiat

Antibiotik.

## Doksisiklin Serbuk Oral

### Definisi

Doksisiklin serbuk oral mengandung doksisiklin hidroklorida.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut.

Mengandung doksisiklin hidroklorida tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Periksa kromatogram yang diperoleh pada penetapan potensi/kadar.

**Hasil.** Puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, mempunyai waktu tambat yang sama dengan puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 20,0 mg zat uji dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20,0 mg standar doksisiklin hiklat dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 20,0 mg standar 6-epidoksisiklin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 20,0 mg standar metasiklin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (d).** Campurkan 4,0 ml larutan standar (a), 1,5 ml larutan standar (b) dan 1,0 ml larutan standar (c) dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (e).** Campurkan 2,0 ml larutan standar (b) dan 2,0 ml larutan standar (c) dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 100,0 ml.

**Kolom.** Kopolimer stiren-divinilbenzen (8 µm), ukuran 0,25 m x 4,6 mm, suhu 60°C.

**Fase gerak.** Larutkan dan encerkan 60,0 g 2-metil-2-propanol dengan 200 ml air, tambahkan 400 ml larutan dapar fosfat pH 8,0, 50 ml tetrabutylamonium hidrogen

sulfat (10 g/l, atur pH 8,0 dengan natrium hidroksida) dan 10 ml larutan natrium edetat (40 g/l, atur pH 8,0 dengan natrium hidroksida) dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000,0 ml.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek.** 20 µl larutan uji dan larutan standar (d) dan (e).

**Waktu tambat relatif terhadap doksisiklin.** Ketidakh murnian E sekitar 0,2, ketidakh murnian D sekitar 0,3, ketidakh murnian C sekitar 0,5, ketidakh murnian F sekitar 1,2.

### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (d).** Resolusi minimum 1,25 antara puncak ketidakh murnian B (puncak ke-1) dan ketidakh murnian A (puncak ke-2); minimum 2,0 antara puncak ketidakh murnian A dan doksisiklin (puncak ke-3). Jika diperlukan, lakukan penyesuaian 2-metil-2-propanol dalam fase gerak.

**Faktor simetri.** Maksimum 1,25 untuk puncak doksisiklin.

### Batas

**Ketidakh murnian A.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e) (2,0%).

**Ketidakh murnian B.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e) (2,0%).

**Ketidakh murnian lain.** Tidak lebih dari 0,25 kali area puncak ketidakh murnian A pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e) (0,5%).

**Abaikan batas.** 0,05 kali area puncak ketidakh murnian A pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e) (0,1%).

**Air.** Tidak lebih dari 2%. Gunakan 1,2 g.

### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis dengan modifikasi berikut: injek larutan uji dan larutan standar (a).

### Penyimpanan

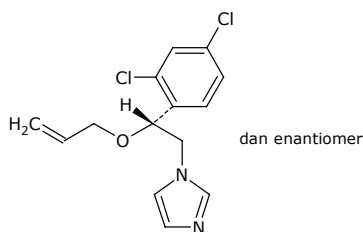
Dalam wadah tertutup kedap dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) indikasi, 3) Kadaluwarsa 4) Kondisi penyimpanan.

## Enilkonazol

*Enilconazole*



$C_{14}H_{14}Cl_2N_2O$

BM: 297,2

[73790-28-0]

### Definisi

Enilkonazol adalah 1-[(2RS)-2-(2,4-dikloro-fenil)-2-(prop-2-eniloksi)etil]-1H-imidazol.

Mengandung tidak kurang 98,5% dan tidak lebih dari 101,5%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Berbentuk minyak berwarna kekuning-kuningan, jernih atau berbentuk padat.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, mudah larut dalam alkohol, metanol dan toluen.

### Identifikasi

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar enilkonazol.

**Rotasi jenis.** Antara  $-0,10^\circ$  sampai  $+0,10^\circ$ . Larutkan dan encerkan 0,1 g sampai batas volume 10 ml dalam metanol.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

Siapkan larutan dengan segera sebelum digunakan dan lindungi dari cahaya.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,100 g zat uji sampai batas volume 100,0 ml dalam toluen.

**Larutan standar (a).** Larutkan 10,0 mg standar enilkonazol dan 10,0 mg ketidakhurnian standar enilkonazol E sampai batas volume 100,0 ml dalam toluen.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5,0 ml larutan uji sampai batas volume 100,0 ml dalam toluen. Encerkan 1,0 ml larutan sampai volume 10,0 ml dalam toluen.

**Kolom.** Capiller poli(dimetil)(difenil) siloxan (ketebalan 0,52  $\mu\text{m}$ ), 25 m x 0,32 mm.

**Gas pembawa.** Gas helium.

**Laju alir.** 1,3 ml/min.

Perbandingan split ratio 1:38.

Suhu:

	Waktu (menit)	Suhu ( $^\circ\text{C}$ )
Kolom	0—6,4 6,4—14	100 → 260 260
Injektor	—	250
Detektor	—	300

**Detektor.** Flame ionisation detector (FID), detektor ionisasi nyala.

**Injek.** 2  $\mu\text{l}$ .

Waktu tambat relatif enilkonazol (sekitar 10 menit); ketidakhurnian A sekitar 0,6; ketidakhurnian B sekitar 0,7; ketidakhurnian C sekitar 0,8; ketidakhurnian D sekitar 0,9; ketidakhurnian F sekitar 1,1.

### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (a).** Resolusi minimum 2,5 antara puncak enilkonazol dan ketidakhurnian E.

### Batas

**Ketidakhurnian.** Tidak lebih dari 2 kali area dari puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,0%), dan tidak lebih dari satu puncak mempunyai area lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

**Total.** Tidak lebih dari 4 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (2,0%).

**Abaikan batas.** 0,1 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Keringkan pada suhu  $40^\circ\text{C}$  selama 4 jam. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%, gunakan 1g.

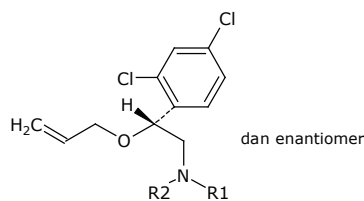
### Penetapan kadar

Larutkan 0,230 g dalam 50 ml campuran dari 1 volume asam asetat anhidrat dan 7 volume etilmetil keton. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M, menggunakan 0,2 ml naftolbenzen sebagai indikator. Setap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 29,72 mg  $C_{14}H_{14}Cl_2N_2O$ .

### Penyimpanan

Kedap udara, dilindungi dari cahaya.

### Ketidakhurnian

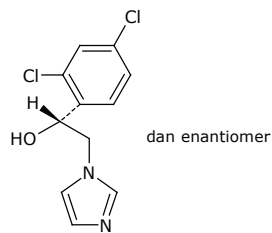


A.  $R_1 = R_2 = \text{H}$ : (2RS)-2-(2,4-diklorofenil)-2-(prop-2-eniloksi) etanamina.

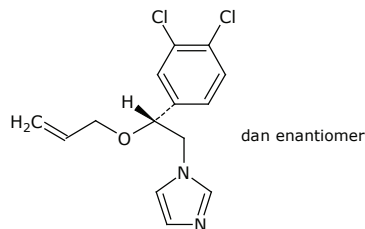
B.  $R_1 = \text{H}$ ,  $R_2 = \text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ : N-[(2RS)-2-(2,4-diklorofenil)-2-(prop-2-eniloksi)etil]prop-2-en-1-amina.

C.  $R_1 = \text{CHO}$ ,  $R_2 = \text{H}$ : N-[(2RS)-2-(2,4-diklorofenil)-2-(prop-2-eniloksi)etil] formamida.

D.  $R_1 = \text{CHO}$ ,  $R_2 = \text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ : N-[(2RS)-2-(2,4-diklorofenil)-2-(prop-2-eniloksi)etil]-N-(prop-2-enil) formamida.



- E. (1RS)-1-(2,4-diklorofenil)-2-(1H-imidazol-1-il) etanol.



- F. 1-[(2RS)-2-(3,4-diklorofenil)-2-(prop-2-eniloksi)etil]-1H-imidazol.

#### Khasiat

Anti jamur.

## Enramisin Hidroklorida

*Enramycin Hydrochloride*

[11115-82-5]

#### Definisi

Enramisin adalah campuran enramisin A, enramisin B dan senyawa sejenis yang dihasilkan dari *Streptomyces fungicidius*, atau yang dihasilkan dari yang lain. Potensi enramisin ditunjukkan dengan potensi enramisin monohidroklorida [enramisin A monohidroklorida ( $C_{107}H_{138}Cl_2N_{26}O_{31} \cdot HCl$ ) tidak kurang dari 58,0% dan enramisin B monohidroklorida ( $C_{108}H_{140}Cl_2N_{26}O_{31} \cdot HCl$ ) tidak kurang dari 42,0%].

Enramisin hidroklorida adalah garam enramisin monohidroklorida. Mengandung tidak kurang dari 900 µg/mg.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal, putih sampai putih pucat kekuningan.

**Kelarutan.** Agak sukar larut dalam air dan metanol, dan praktis tidak larut dalam etanol, aseton, eter dan kloroform.

#### Identifikasi

Larutkan 20 mg enramisin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,1M sampai batas volume 1000 ml. Serapan maksimum pada panjang gelombang 228 dan 234 nm dan antara 269 dan 275 nm, minimum pada 250 dan 256 nm.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 8%.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi menurut cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotika.

#### Penyimpanan

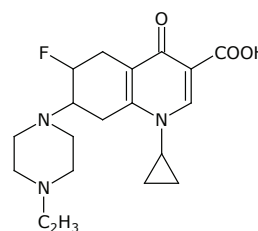
Dalam wadah, tertutup rapat dan terlindung dari cahaya.

#### Khasiat

Antibiotik.

## Enrofloksasin

*Enrofloxacin*



$C_{19}H_{22}O_3F$

BM: 359,4

[93106-60-6]

#### Definisi

Mengandung enrofloksasin tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal kuning atau kekuningan.

**Kelarutan.** Larut dalam larutan alkalis dan larutan asam mineral.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar enrofloksasin.

B. Periksa kromatogram yang diperoleh pada penetapan kadar, waktu tambat larutan uji sama dengan waktu tambat larutan standar.

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam asam asetat sampai 30 ml. Tambah 2 ml air dan saring. Hasil saringan memenuhi batas uji. Siapkan standar menggunakan 10 ml standar timbal (1 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih 1,0%. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih 0,1%. Gunakan 1,0 g.

#### Penetapan kadar

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Sediaan setara 5 mg enrofloksasin, tambah 100 ml asetonitril. Saring dan jika perlu encerkan.

**Larutan standar.** Pada 5 mg standar enrofloksasin, tambah 100 ml asetonitril. Saring dan jika perlu encerkan.

**Kolom.** C-18 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 1 volume asetonitril, 10 volume asam asetat 5% v/v dan 6 volume metanol.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm dan 330 nm.

**Injek.** 20  $\mu\text{l}$  dari setiap larutan.

- Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan: Larutkan dan encerkan 20 mg zat uji dalam metanol atau natrium hidroksida 0,1 M sampai batas volume 100 ml. Jika perlu encerkan dan saring. Ukur serapan pada panjang gelombang 254 nm dan 330 nm.

### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup rapat dan baik.

### Khasiat

Anti-bakteri.

## Enrofloksasin Injeksi

### Definisi

Enrofloksasin injeksi adalah larutan steril dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Periksa kromatogram yang diperoleh pada penetapan kadar. Waktu tambat puncak yang diperoleh dengan larutan uji, sesuai dengan waktu tambat yang diperoleh dengan larutan standar.

**Strelitas.** Memenuhi uji sterilitas.

**pH.** 9,0—11,0.

### Penetapan kadar

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan:
  - Larutan uji.** Sediaan setara 5 mg enrofloksasin, tambah 100 ml asetonitril. Saring dan bila perlu encerkan dengan fase gerak.
  - Larutan standar.** Pada 5 mg standar enrofloksasin, tambah 100 ml asetonitril. Saring dan bila perlu encerkan dengan fase gerak.
  - Kolom.** C-18 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.
  - Fase gerak.** Campur 1 volume asetonitril, 10 volume asam asetat 5% v/v dan 6 volume metanol.
  - Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm dan 330 nm.
  - Injek.** 20  $\mu\text{l}$  dari setiap larutan.
- Lakukan dengan metode spektrofotometer, meng-

gunakan larutan: Larutkan dan encerkan 20 mg zat uji dalam metanol atau natrium hidroksida 0,1 M sampai batas volume 100 ml. Jika perlu encerkan dan saring. Ukur serapan pada panjang gelombang 254 nm dan 330 nm.

### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Untuk injeksi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

## Enrofloksasin Larutan Oral

### Definisi

Enrofloksasin larutan oral mengandung enrofloksasin.

Larutan oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan larutan oral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Periksa kromatogram yang diperoleh pada penetapan kadar. Waktu tambat puncak yang diperoleh dengan larutan uji, sesuai dengan waktu tambat yang diperoleh dengan larutan standar.

**pH.** 9,0—11,0.

### Penetapan kadar

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan:
  - Larutan uji.** Sediaan setara 5 mg enrofloksasin, tambah 100 ml asetonitril. Saring dan bila perlu encerkan dengan fase gerak.
  - Larutan standar.** Pada 5 mg standar enrofloksasin, tambah 100 ml asetonitril. Saring dan bila perlu encerkan dengan fase gerak.
  - Kolom.** C-18 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.
  - Fase gerak.** Campur 1 volume asetonitril, 10 volume asam asetat 5% v/v dan 6 volume metanol.
  - Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm dan 330 nm.
  - Injek.** 20  $\mu\text{l}$  dari setiap larutan.
- Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan:
  - Larutkan dan encerkan 20 mg zat uji dalam metanol atau natrium hidroksida 0,1 M sampai batas volume 100 ml. Jika perlu encerkan dan saring.
  - Ukur serapan pada panjang gelombang 254 nm dan 330 nm.

### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

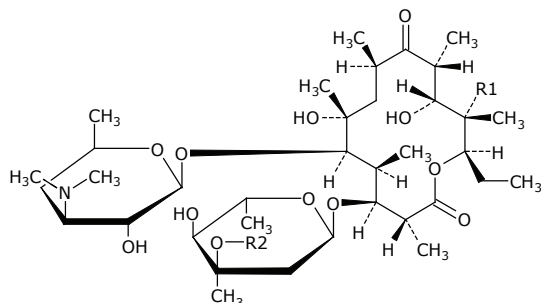


**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Untuk injeksi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

## Eritromisin

*Erythromycin*



Eritromisin	Rumus Mol.	$M_r$	R1	R2
A	$C_{37}H_{67}NO_{13}$	734	OH	$CH_3$
B	$C_{37}H_{67}NO_{12}$	718	H	$CH_3$
C	$C_{36}H_{65}NO_{13}$	720	OH	H

[114-07-8]

**Definisi**

Antibiotik makrolid yang diproduksi dari *Streptomyces erythreus*, komponen utama adalah (3R,4S,5S,6R,7R,9R,11R,12R,13S,14R)-4-[(2,6-dideoksi-3-C-metil-3-O-metil- $\alpha$ -L-ribo-heksopiranosil)oksi]-14-etil-7,12,13-trihidroksi-3,5,7,9,11,13-heksametil-6-[(3,4,6-trideoksi-3-dimetilameno- $\beta$ -D-silo-heksopiranosil)-oksi] oksasiklotetradekan-2,10-dion (eritromisin A).

Mengandung eritromisin A, eritromisin B dan eritromisin C tidak kurang dari 93,0% dan tidak lebih dari 102,0% (zat anhidrat), eritromisin B tidak lebih dari 5,0%, eritromisin C tidak lebih dari 5,0%.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau sedikit kuning atau tidak berwarna, sedikit higroskopik.

**Kelarutan.** Sukar larut dalam air (daya larut melemah jika suhu naik), mudah larut dalam alkohol, dan larut dalam metanol.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: A.

Identifikasi kedua: B, C, D.

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar eritromisin.

Abaikan panjang gelombang dari 1980—2050  $cm^{-1}$ . Jika spektrum yang diperoleh menunjukkan perbedaan, larutkan 50 mg zat uji dan standar secara terpisah dalam 1,0 ml metilen klorida, keringkan pada suhu 60°C dan tekanan tidak melebihi 670 Pa selama 3. Periksa spektrum residu.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 10 mg zat uji

dalam metanol sampai 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar eritromisin dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar spiramisin dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 4 volume 2-propanol, 8 volume amonium asetat (150 g/l, atur pH 9,6 dengan amoniak) dan 9 volume etil asetat.

Totolkan 1  $\mu$ l dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan larutan anisaldehyd dan panaskan pada suhu 110°C selama 5 menit.

**Hasil.** Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji adalah sama pada tempat, warna dan ukuran dengan bercak utama yang diperoleh dari larutan standar (a) tetapi berbeda pada tempat dan warna dengan bercak yang diperoleh dari larutan standar (b).

C. Pada 5 mg tambah 5 ml santidrol (0,2 g/l dalam campuran 1 volume asam hidroklorida dan 99 volume asam asetat) panaskan di atas penangas air. Terbentuk warna merah.

D. Larutkan 10 mg dalam 5 ml asam hidroklorida, biarkan selama 10-20 menit. Terbentuk warna kuning.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam etanol sampai batas volume 50,0 ml. Rotasi jenis adalah  $-71^\circ$  sampai  $-78^\circ$  (zat anhidrat).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Dapar fosfat pH 7,0.** Campur 82,4 ml dinatrium hidrogen ortofosfat (7,15% b/v) dengan 17,6 ml asam sitrat (2,1% b/v)

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 40,0 mg zat uji dalam campuran 1 volume metanol dan 3 volume dapar fosfat pH 7,0 sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 40,0 mg standar eritromisin A dalam campuran 1 volume metanol dan 3 volume dapar fosfat pH 7,0 sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10,0 mg standar eritromisin B dan 10,0 mg standar eritromisin C dalam campuran 1 volume metanol dan 3 volume dapar fosfat pH 7,0 sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan 5 mg standar N-demetileritromisin A dalam larutan standar (b). Tambah 1 ml larutan standar (a) dan encerkan dengan larutan standar (b) sampai batas volume 25 ml.

**Larutan standar (d).** Encerkan 3,0 ml larutan standar (a) campuran 1 volume metanol dan 3 volume dapar fosfat pH 7,0 sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (e).** Pindahkan 40 mg standar eritromisin A ke dalam botol, panaskan pada suhu 130°C selama 4 jam. Dinginkan dan larutkan dalam campuran

1 volume metanol dan 3 volume dapar fosfat pH 7,0 sampai volume 10,0 ml.

**Kolom.** Kopolimer stiren-divinilbenzen (8  $\mu\text{m}$ ), ukuran 0,25 m x 4,6 mm, suhu 70°C.

**Fase gerak.** Pada 50 ml dikalium hidrogen fosfat (35 g/l, atur pH 9,0  $\pm$  0,05 dengan asam fosfat encer), tambahkan 400 ml air, 165 ml 2-metil-2-propanol dan 30 ml asetonitril, dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Laju alir.** 2,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 215 nm.

**Injek.** 100  $\mu\text{l}$  larutan uji dan larutan standar (c), (d) dan (e).

**Waktu uji.** 5 kali waktu tambat eritromisin A.

**Waktu tambat relatif terhadap standar eritromisin A.** Eritromisin A sekitar 15 menit, ketidakhurnian A sekitar 0,3, ketidakhurnian B sekitar 0,45, eritromisin C sekitar 0,5, ketidakhurnian C sekitar 0,9, ketidakhurnian D sekitar 1,4, ketidakhurnian F sekitar 1,5, eritromisin B sekitar 1,8; ketidakhurnian E sekitar 4,3.

#### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (c).** Resolusi minimum 0,8 antara puncak ketidakhurnian B dan eritromisin C serta minimum 5,5 antara puncak ketidakhurnian B dan eritromisin A. Jika diperlukan, atur konsentrasi 2-metil-2-propanol dalam fase gerak atau laju alir 1,5 ml atau 1,0 ml/menit.

#### Batas

**Faktor-koreksi.** Mengalikan area puncak ketidakhurnian berikut [untuk identifikasi gunakan pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e)] dengan faktor-koreksi ketidakhurnian E 0,09, ketidakhurnian F 0,15.

**Ketidakhurnian lain.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (d) (3,0%).

**Total.** Tidak lebih dari 2,3 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (d) (7,0%).

**Abaikan batas.** 0,02 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (d) (0,06%), abaikan puncak eritromisin B dan eritromisin C.

**Tiosianat.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Pelarut.** Larutkan 3,35 g besi (III) klorida heksahidrat dalam air dan tambahkan 52,5 ml asam nitrat, encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml.

**Larutan uji.** Larutkan 0,1 g dalam etanol (96%), tambah 5 ml pelarut dan encerkan dengan etanol (96%) sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar.** Standar kalium tiosianat (417  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) dalam etanol (96%).

Ukur serapan pada panjang gelombang 470 nm. Spektrum serapan yang diperoleh larutan uji tidak

lebih besar dari spektrum serapan yang diperoleh 2 ml larutan standar.

**Air.** Tidak lebih dari 6,5%. Gunakan 0,2 g. Gunakan imidazole 100 g/l dalam metanol anhidrat sebagai pelarut.

**Abu sulfat.** Tidak lebih 0,2%. Gunakan 1,0 g.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
- Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis dengan cara:

**Injek.** Larutan uji dan larutan standar (a) dan (b).

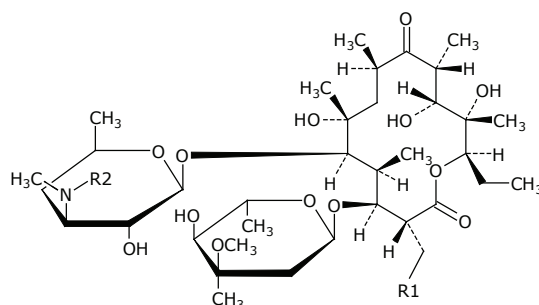
**Kesesuaian sistem larutan standar (a).** Standar deviasi tidak lebih dari 1,2% untuk 6 kali injek.

Hitung % eritromisin A pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a). Hitung % eritromisin B dan C pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b).

#### Penyimpanan

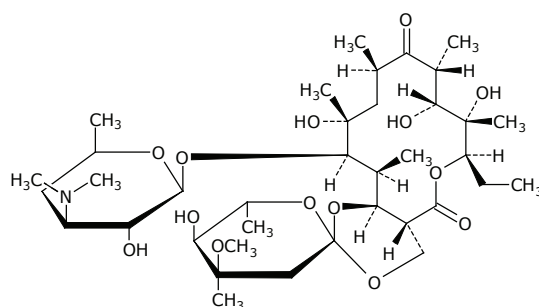
Dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakhurnian

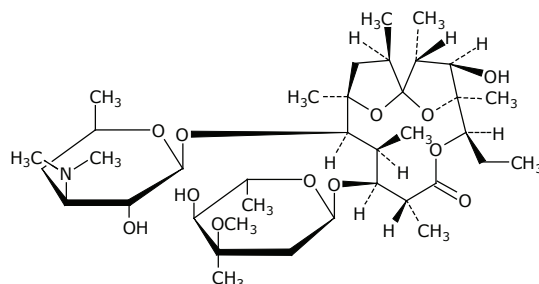


A. R1 = OH, R2 = CH<sub>3</sub>: Eritromisin F.

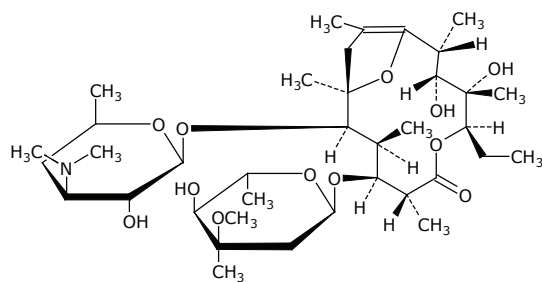
B. R1 = R2 = H: N-demetileritromisin A.



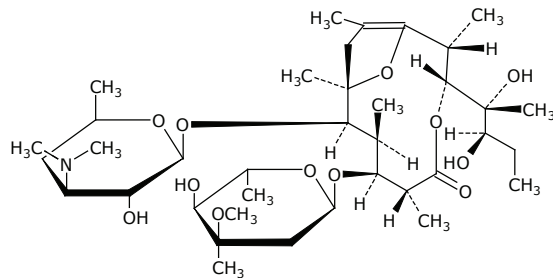
C. Eritromisin E.



D. Anhidroeritromisin A.



E. Eritromisin A enol eter.



F. Pseudoeritromisin A enol eter.

**Khasiat**

Antibiotik.

**Eritromisin Serbuk Oral****Definisi**

Eritromisin serbuk oral mengandung eritromisin tiosianat.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut.

Mengandung eritromisin tiosianat tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

- Pada 5 mg, tambah 2 ml asam sulfat, aduk perlahan-lahan, terjadi warna coklat kemerahan.
- Larutkan 3 mg dalam 2 ml aseton, tambah 2 ml asam hidroklorida, terjadi warna jingga yang berubah menjadi merah dan kemudian menjadi merah tua keunguan. Tambah 2 ml kloroform, aduk. Lapisan kloroform berwarna ungu.
- Pada 5 mg tambah 5 ml larutan santidrol (0,02% b/v) dalam campuran 1 volume asam hidroklorida dan 99 volume asam asetat 5M, panaskan diatas penangas air. Terjadi warna merah.

**Penetapan potensi/kadar**

Lakukan penetapan menurut cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup kedap dan terlindung dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) indikasi, 3) Kadaluwarsa 4) Kondisi penyimpanan.

**Eritromisin Tablet****Definisi**

Eritromisin tablet mengandung eritromisin tiosianat. Eritromisin tablet adalah tablet bersalut enterik, gula atau selaput.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut.

Mengandung eritromisin tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

- Pada sediaan setara dengan 100 mg eritromisin tambah kloroform, hilangkan warna bila diperlukan dengan karkol dan saring. Uapkan hasil saringan sampai kering. Spektrum serapan inframerah dari residu yang dikeringkan pada tekanan tidak lebih dari 0,7 kPa sama dengan spektrum serapan standar eritromisin.
- Larutkan setara 3 mg eritromisin dalam 2 ml aseton dan 2 ml asam hidroklorida, terbentuk warna orange yang berubah menjadi merah sampai merah tua. Tambah 2 ml kloroform, kocok, kloroform menjadi berwarna ungu.

**Disintegrasi.** Memenuhi syarat tablet bersalut enterik, gula atau selaput. Selama 1 jam dalam asam hidroklorida 0,1 M**Penetapan potensi/kadar**

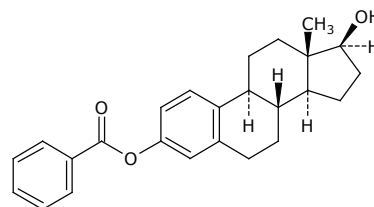
Lakukan penetapan seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotika.

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup, kedap dan terlindung dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) indikasi, 3) Kadaluwarsa 4) Kondisi penyimpanan.

**Estradiol Benzoat***Estradiol Benzoate* $C_{25}H_{28}O_3$ 

BM: 376,5

[50-50-0]

**Definisi**

Estradiol benzoat adalah 17b-hidroksiestra-1,3,5(10)-trien-3-il benzoat.

Mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0% dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau tidak berwarna.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam metilen klorida, agak sukar larut dalam aseton dan sukar larut dalam metanol.

**Identifikasi**

Spektrum serapan inframerah sama dengan spektrum serapan standar estradiol benzoat. Jika spektrum yang diperoleh zat padat menunjukkan perbedaan, larutkan zat uji dan zat standar secara terpisah dalam aseton, evaporasi sampai kering dan periksa spektrum residu.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam aseton sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis +55,0° sampai +59,0° dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 20 mg zat uji dalam asetonitril sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 5 mg standar estradiol benzoat ketidakhurnian E dalam 5 ml asetonitril, tambah 2,5 ml larutan uji dan encerkan dengan asetonitril sampai 10 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan asetonitril sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktasililil 5 µm, ukuran 0,25 m x 4,6 mm.

**Fase gerak A.** Air dan asetonitril (40:60 v/v).

**Fase gerak B.** Asetonitril.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0 — t <sub>R</sub>	100	0
t <sub>R</sub> — (t <sub>R</sub> + 1)	100 → 10	0 → 90
(t <sub>R</sub> + 1) — (t <sub>R</sub> + 10)	10	90

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 230 nm.

**Injek.** 10 µl.

**Elusi.** Ketidakhurnian A, ketidakhurnian F, estradiol benzoat, ketidakhurnian E, ketidakhurnian B, ketidakhurnian D, ketidakhurnian C.

**Waktu tambat relatif terhadap estradiol benzoat.** Ketidakhurnian C sekitar 1,5.

**Kesesuaian sistem**

**Larutan standar (a).** Resolusi minimum 2,0 antara puncak estradiol benzoat dan ketidakhurnian E.

**Batas**

**Faktor-koreksi.** Mengalikan area puncak ketidakhurnian C dengan 0,7.

**Ketidakhurnian lain.** Untuk setiap ketidakhurnian, tidak lebih dari 0,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

**Total.** Tidak lebih dari 1,5 kali area puncak utama

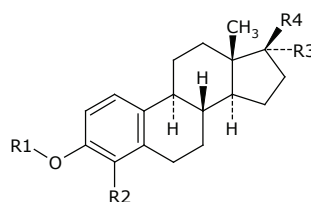
pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,5%).

**Abaikan batas.** 0,05 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%).

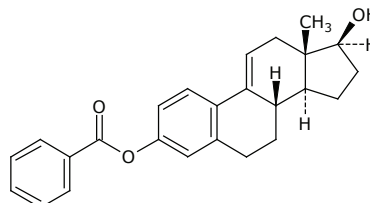
**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5% pada pengeringan dengan suhu 105°C. Gunakan 0,5 g.

**Penetapan kadar**

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan: Larutkan dan encerkan 25,0 mg dalam etanol anhidrat sampai batas volume 250,0 ml. Encerkan 10,0 ml larutan sampai batas volume 100,0 ml dengan etanol anhidrat. Ukur serapan maksimum pada panjang gelombang 231 nm.

**Ketidakhurnian**

- R1 = R2 = R3 = H, R4 = OH: estradiol.
- R1 = CO-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, R2 = CH<sub>3</sub>, R3 = H, R4 = OH: 17b-hidroksi-4-metilestra-1,3,5(10)-trien-3-il benzoat.
- R1 = CO-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, R2 = R3 = H, R4 = O-CO-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>: estra-1,3,5(10)-triena-3,17b-diil dibenzoat.
- R1 = R2 = R3 = H, R4 = O-CO-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>: 3-hidroksi-estra-1,3,5(10)-triena-17b-il benzoat.
- R1 = CO-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, R2 = R4 = H, R3 = OH: 17a-hidroksi-estra-1,3,5(10)-triena-3-il benzoat.



- 17b-hidroksi-estra-1,3,5(10),9(11)-tetraen-3-il benzoat.

**Khasiat**

Oestrogen.

**Estradiol Benzoat Injeksi****Definisi**

Estradiol benzoat injeksi adalah larutan steril estradiol benzoat dalam etil oleat atau gugus ester lain yang sesuai dan dalam minyak dan dapat mengandung alkohol.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 80 volume toluen dengan 20 volume etil asetat.

**Larutan (1).** Setara 2 mg esatradiol benzoat, tambah 10 ml 2,2,4-trimetilpentan, ekstraksi 3 kali, masing-masing dengan 10 ml etanol 70%. Bilas ekstrak dengan 15 ml 2,2,4-trimetilpentan. Uapkan sampai kering, larutkan residu dalam 2 ml kloroform.

**Larutan (2).** Standar estradiol benzoat 0,1% b/v dalam kloroform.

**Detektor.** Spektrofotometer ultraviolet pada panjang gelombang 366 nm.

Totolkan secara terpisah 5 ml dari setiap larutan. Angkat lempeng, keringkan diudara, semprot dengan larutan asam sulfat 10% v/v dalam etanol (96%). Panaskan pada suhu 105° C selama 10 menit. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan (2).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 20 mg zat uji dalam asetonitril sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 5 mg standar estradiol benzoat ketidakhurnian E dalam 5 ml asetonitril, tambahkan 2,5 ml larutan uji dan encerkan dengan asetonitril sampai 10 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan asetonitril sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktilsilil 5 µm, ukuran 0,25 m x 4,6 mm.

**Fase gerak A.** Air dan asetonitril (40:60 v/v).

**Fase gerak B.** Asetonitril.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0 - t <sub>R</sub>	100	0
t <sub>R</sub> - (t <sub>R</sub> + 1)	100 → 10	0 → 90
(t <sub>R</sub> + 1) - (t <sub>R</sub> + 10)	10	90

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 230 nm.

**Injek.** 10 µl.

**Elusi.** Ketidakhurnian A, ketidakhurnian F, estradiol benzoat, ketidakhurnian E, ketidakhurnian B, ketidakhurnian D, ketidakhurnian C.

**Waktu tambat relatif terhadap estradiol benzoat.** Ketidakhurnian C sekitar 1,5.

**Kesesuaian sistem**

**Larutan standar (a).** Resolusi minimum 2,0 antara puncak estradiol benzoat dan ketidakhurnian E.

**Batas**

**Faktor-koreksi.** Mengalikan area puncak ketidakhurnian C dengan 0,7.

**Ketidakhurnian lain.** Untuk setiap ketidakhurnian,

tidak lebih dari 0,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

**Total.** Tidak lebih dari 1,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,5%).

**Abaikan batas.** 0,05 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%).

### Penetapan kadar

Lakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Sediaan injeksi yang mengandung 0,2% atau lebih estradiol benzoat.

**Larutan standar internal.** Larutkan 15 mg standar 4-hidroksi benzaldehida dalam 5 ml 1,4-dioksan, tambah sikloheksan sampai 10 ml (larutan A).

**Larutan standar (1).** Larutkan 10 mg standar estradiol benzoat dengan 1 ml larutan A dan encerkan dengan campuran 9 volume sikloheksan dan 1 volume 1,4-dioksan sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (2).** Lakukan dengan cara yang sama seperti larutan (1) menggunakan 10 mg estradiol benzoat, tanpa larutan A.

**Kolom.** Porasil atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 9 volume sikloheksan dengan 1 volume 1,4-dioksan.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 231 nm atau 254 nm.

Injek 20 µl dari setiap larutan. Perbandingan waktu tambat antara puncak benzil alkohol (bila ada) dan estradiol benzoat dan antara puncak estradiol benzoat dan standar internal lebih besar dari 1,5.

Hitung kadar estradiol benzoat.

2. Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan: Larutkan dan encerkan zat uji yang mengandung 25,0 mg estradiol benzoat dalam etanol anhidrat sampai batas volume 250,0 ml. Encerkan 10,0 ml larutan sampai batas volume 100,0 ml dengan etanol anhidrat. Ukur serapan maksimum pada panjang gelombang 231 nm.

### Penyimpanan

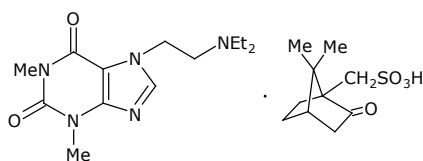
Dalam wadah, kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Untuk injeksi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

## Etamifilin Kamsilat

*Etamiphylline Camsylate*



$C_{13}H_{21}N_5O_2$ ,  $C_{10}H_{16}O_4S$       BM: 511,6      [19326-29-5]

### Definisi

Etamifilin kamsilat adalah 7-(2-dietilaminoetil)teofilin kamfor sulfonat. Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% dari  $C_{13}H_{21}N_5O_2$ ,  $C_{10}H_{16}O_4S$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air; larut dalam koroform dan etanol (96%); sangat sukar larut dalam eter.

### Identifikasi

- Serapan cahaya, pada panjang gelombang 230—350 nm. Larutan 0,004% b/v, menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 274 nm sekitar 0,70.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar etamifilin kamsilat.
- Larutkan 0,1 g natrium hidroksida dalam air dan netralkan dengan asam hidroklorida. Larutan yang dihasilkan menghasilkan reaksi sulfat.

**Suhu lebur.** 202°—206°C.

**Keasaman.** Larutan 10% b/v pH 3,9—5,4.

**Etamifilin bebas.** Tidak lebih dari 2,0% b/b yang ditentukan oleh metode titrasi bebas air, menggunakan 2 g yang dilarutkan dalam 75 ml asam asetat glasial dan tentukan titik-akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 27,93 mg etamifilin bebas.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metoda kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika HF<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Campur 80 volume kloroform, 20 volume etanol (96%) dan 1 volume amoniak 13,5 M.

**Larutan (1).** Zat uji 4,0% b/v dalam air.

**Larutan (2).** Zat uji 0,0080% b/v dalam air.

Totolkan secara terpisah 10 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa di dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak kedua pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan bercak yang di peroleh dengan larutan (2) (0,2%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%, keringkan pada suhu 105°C. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,2%.

### Penetapan kadar

**Asam kamforsulfonat.** Larutkan 1 g dalam 25 ml metanol, yang sudah dinetralkan dengan natrium hidroksida 1 M, dan titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 M menggunakan timol biru sebagai indikator. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 51,16 mg  $C_{13}H_{21}N_5O_2$ ,  $C_{10}H_{16}O_4S$ .

**Etamifilin.** Larutkan 0,15 g dalam 20 ml asam hidroklorida 2 M, tambahkan 12 ml larutan 5% b/v asam silikotungstat dan biarkan selama 5 jam, saring. Bilas residu dengan asam hidroklorida 2 M sampai tidak menghasilkan endapan dengan larutan 1% b/v kuinin hidroklorida dan keringkan pada suhu 110°C. Setiap g dari residu setara dengan 0,2830 g dari  $C_{13}H_{21}N_5O_2$ ,  $C_{10}H_{16}O_4S$ .

### Khasiat

Xantin bronkodilator.

## Etamifilin Injeksi

### Definisi

Etamifilin injeksi adalah larutan steril etamifilin kamsilat di dalam air untuk injeksi.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung etamifilin kamsilat,  $C_{13}H_{21}N_5O_2$ ,  $C_{10}H_{16}O_4S$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Siapkan sejumlah residu sebagaimana diuraikan dalam penetapan kadar. Residu memenuhi uji berikut:

- Spektrum serapan inframerah, sesuai dengan spektrum serapan standar etamifilin.
- Memberikan reaksi santin.

**Keasaman.** pH 3,9—5,4.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika HF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 80 volume kloroform, 20 volume etanol (96%) dan 1 volume amoniak 13,5 M.

**Larutan (1).** Encerkan sediaan dengan air hingga menghasilkan larutan etamifilin kamsilat 3,5% b/v.

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan (1) sampai 500 volume dengan air.

Totolkan secara terpisah 10 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa di dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak kedua pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2).

### Penetapan kadar

Pada sediaan, setara 0,7 g etamifilin kamsilat tambahkan 15 ml air, buat alkalin dengan amonia 5 M dan ekstraksi tiga kali, masing-masing 25 ml kloroform, bilas dengan 5 ml air. Uapkan ekstrak hingga kering, larutkan residu

dalam 25 ml air dan titrasi dengan asam sulfat 0,05 M menggunakan bromokresol hijau sebagai indikator. Setiap ml asam sulfat 0,05 M setara dengan 51,16 mg  $C_{13}H_{21}N_5O_2, C_{10}H_{16}O_4S$ .

### Penyimpanan

Dalam wadah, kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Untuk injeksi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

## Etamifilin Serbuk Oral

### Definisi

Etamifilin serbuk oral adalah campuran etamifilin kamsilat dan glukosa atau pembawa yang sesuai. Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk serbuk oral dan persyaratan berikut.

Mengandung etamifilin kamsilat  $C_{13}H_{21}N_5O_2, C_{10}H_{16}O_4S$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Memenuhi uji seperti diuraikan dalam etamifilin tablet menggunakan residu yang disiapkan sebagaimana diuraikan dalam penetapan kadar.

**Senyawa sejenis.** Memenuhi uji seperti diuraikan dalam etamifilin tablet tetapi menggunakan:

**Larutan (1).** Kocok sediaan, setara 0,2 g etamifilin kamsilat dengan 20 ml kloroform dan saring. Uapkan hasil saringan sampai kering dan larutkan residu dalam air hingga menghasilkan larutan etamifilin kamsilat 4% b/v.

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan (1) sampai 500 volume dengan air.

### Penetapan kadar

Larutkan sediaan, setara 0,5 g etamifilin kamsilat dalam 25 ml air, buat basa dengan amonia 5 M dan ekstraksi tiga kali, masing-masing 25 ml kloroform. Bilas ekstrak 5 kali dengan air. Uapkan ekstrak kloroform sampai kering dan larutkan residu dalam 25 ml air. Titrasi dengan asam sulfat 0,05 M menggunakan bromokresol hijau sebagai indikator. Setiap ml asam sulfat 0,05 M setara dengan 51,16 mg  $C_{13}H_{21}N_5O_2, C_{10}H_{16}O_4S$ .

### Penyimpanan

Dalam wadah, kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Untuk injeksi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

## Etamifilin Tablet

### Definisi

Etamifilin tablet berisi etamifilin kamsilat yang disalut. Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam tablet dan persyaratan berikut.

Mengandung etamifilin kamsilat,  $C_{13}H_{21}N_5O_2, C_{10}H_{16}O_4S$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Menggunakan residu sebagaimana diuraikan dalam penetapan kadar. Residu memenuhi uji berikut.

- Spektrum serapan inframerah, sesuai dengan spektrum serapan standar etamifilin.
- Memberikan reaksi xantin.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika  $HF_{254}$  atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur volume amonia 13,5 M, 20 volume etanol (96%) dan 80 volume kloroform.

**Larutan (1).** Aduk sediaan setara 0,2 g etamifilin kamsilat dengan 5 ml metanol dan sentrifus.

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan (1) dengan metanol sampai 500 volume.

Totolkan secara terpisah 10  $\mu$ l dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa di bawah cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak kedua pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (0,2%).

### Penetapan kadar

Pada sediaan, setara 0,5 g etamifilin kamsilat larutkan dalam 30 ml air, buat alkalin dengan amonia 5 M dan ekstraksi tiga kali, masing-masing 25 ml kloroform, bilas ekstrak kloroform 5 kali dengan air. Uapkan ekstrak kloroform hingga kering, larutkan residu dalam 25 ml air. Titrasi dengan asam sulfat 0,05 M menggunakan bromokresol hijau sebagai indikator. Setiap ml asam sulfat 0,05 M setara dengan 51,16 mg  $C_{13}H_{21}N_5O_2, C_{10}H_{16}O_4S$ .

### Penyimpanan

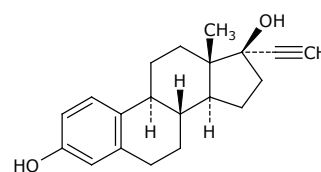
Dalam wadah, kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Untuk injeksi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

## Etinilestradiol

*Ethinylestradiol*



$C_{20}H_{24}O_2$

BM: 296,4

[57-63-6]

### Definisi

Etinilestradiol adalah 19-nor-17 $\alpha$ -pregna-1,3,5(10)-trien-20-ine-3,17-diol.

Mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 102,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kekuningan.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam alkohol dan alkali encer.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar. Bila spektrum yang diperoleh berbeda, larutkan zat uji dan standar dalam metanol, uapkan sampai kering. Ukur kembali menggunakan residu.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25 mg zat uji dalam campuran 1 volume metanol dan 9 volume metilen klorida sampai volume 25 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 25 mg standar etinilestradiol dalam campuran 1 volume metanol dan 9 volume metilen klorida sampai volume 25 ml.

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur alkohol dan toluen (10:90 v/v).

Totolkan secara terpisah 5 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara, panaskan dengan suhu 110°C selama 10 menit. Semprot lempeng yang panas dengan asam sulfat-alkohol dan panaskan kembali dengan suhu 110°C selama 10 menit. Periksa dengan cahaya dan cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, ukuran, warna dan fuorosensi dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 1,25 g dalam piridin sampai volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah -27° sampai -30° yang dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dengan fase gerak sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 10 mg estradiol dalam fase gerak, tambah 10 ml larutan uji dan encerkan dengan fase gerak sampai volume 50 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan fase gerak sampai 10,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 10,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai volume 50,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan fase gerak sampai volume 20,0 ml.

**Kolom.** Oktadisilsilil, 5 µm, ukuran 15 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur asetonitril dan air ((45:55 v/v).

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

**Injek.** 20 µl.

**Waktu uji.** 2,5 kali waktu tambat etinilestradiol.

Waktu tambat relatif dengan standar terhadap etinilestradiol adalah sekitar 4,6 menit; ketidakmurnian D sekitar 0,76; ketidakmurnian B sekitar 0,94.

### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (a).** Resolusi antara puncak ketidakmurnian D dan etinilestradiol adalah minimum 3,5.

### Batas

**Ketidakmurnian B.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,0%).

**Ketidakmurnian lain.** Tidak lebih dari 0,25 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,25%).

**Total ketidakmurnian lain.** Tidak lebih dari setengah area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

**Abaikan batas.** 0,05 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0%, pada pengeringan dengan suhu 105°C selama 3 jam. gunakan 0,5 g

### Penetapan kadar

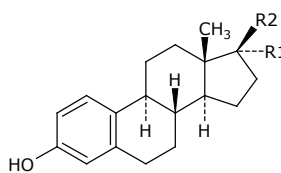
Larutkan 0,2 g dalam 40 ml tetrahidrofuran dan 5 ml perak nitrat (100 g/l). Titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 M, Tentukan titik akhir secara potensiometrik. Lakukan titrasi blanko.

Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M, setara dengan 29,64 mg C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub>.

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

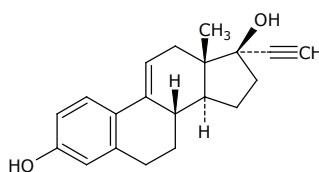
### Ketidakmurnian



A. R1 = OH, R2 = C<sup>o</sup>CH: 19-norpregna-1,3,5(10)-triena-20-ina-3,17-diol (17b-etinilestradiol).

C. R1 + R2 = O: 3-hidroksiestra-1,3,5(10)-triena-17-on (estron).

D. R1 = H, R2 = OH: estradiol.



B. 19-nor-17a-pregna-1,3,5(10),9(11)-tetraen-20-ina-3,17-diol.

### Khasiat

Oestrogen.



## Etinilestradiol Tablet

### Definisi

Etinilestradiol tablet adalah tablet bersalut gula atau selaput.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

A. Menggunakan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 90 volume toluen dan 10 volume etanol.

**Larutan (1).** Pada zat uji setara 0,25 mg etinilestradiol, ekstraksi 4 kali, masing-masing dengan 20 ml aseton, saring. Evaporasi hasil saringan sampai kering diatas penangas air dan dengan aliran nitrogen. Larutkan residu dalam 0,25 ml.

**Larutan (2).** Standar etinilestradiol 0,1% b/v dalam aseton.

Totolkan 20 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan diudara. Semprot dengan asam sufta-etanol (20%), panaskan pada suhu 110°C selama 10 menit. Periksa dengan cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan (1) sesuai dengan bercak utama yang diperlohe dengan larutan (2)

B. Pada sediaan, setara dengan 0,1 mg etinilestradiol, tambah 0,5 ml natrium hidoksida 0,1M dan 5 ml air, biarkan selama 5 menit dan saring. Asamkan hasil saringan dengan asam sulfat dan tambah 3 ml eter, aduk dan biarkan terpisah. Evaporasi fase eter sampai kering. Tambah 0,2 ml asam asetat glasial dan 2 ml asam fosfat dan panaskan diatas penangas air selama 5 menit. Terbentuk warna merah muda dengan berfluoresensi orange yang

**Keseragaman isi.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti pada penetapan kadar.

### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Standar etinilestradiol 0,0025% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (2).** Sediaan setara etinilestradiol 0,0025% dalam fase gerak.

**Kolom.** Zorbax ODS, 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 40 volume air dan 60 volume asetonitril.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

**Injek.** 20 µl dari setiap larutan.

### Penyimpanan

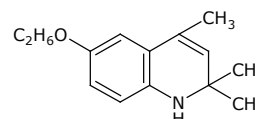
Pada suhu kurang dari 15°C, hindarkan dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Indikasi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

## Etoksikuin

*Ethoxyquin*



$C_{14}H_{19}NO$

BM: 217,31

[91-53-2]

### Definisi

Etoksikuin adalah monomer dari  $C_{14}H_{19}NO$ .

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Cairan tidak berwarna, bercahaya kekuning-kuningan, cenderung polimersi dan berwarna gelap bila terkena cahaya dan udara.

**Kelarutan.** Larut dalam pelarut organik, minyak nabati dan lemak. Praktis tidak larut dalam air.

### Identifikasi

Larutan 1 mg dalam 10 ml asetonitril menunjukkan fluoresensi yang kuat ketika dilihat dengan cahaya ultraviolet (254 nm).

**Arsen.** Tidak lebih dari 3 ppm.

**Logam berat.** Tidak lebih dari 10 ppm. Gunakan 2 g.

### Penetapan kadar

Pada sediaan setara dengan 0,2 g tambah 25 ml asam format anhidrat 50 ml asam asetat glasial. Titrasi dengan asam perklorat 0,1M, tentukan titik akhir secara potensiometri. Lakukan titrasi balnko. Setiap ml asam perklorat 0,1M setara 21,73 mg  $C_{14}H_{19}NO$  (monomer).

### Penyimpanan

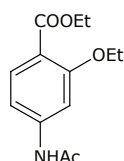
Dalam wadah tertutup rapat, dingin dan gelap dan dilindungi dari cahaya.

### Khasiat

Antioksidan.

## Etopabat

*Ethopabate*



$C_{12}H_{15}NO_4$

BM: 237,35

[59-06-3]

### Definisi

Etopabat adalah metil 4-asetamido-2-etoksi-benzoat.

Mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{12}H_{15}NO_4$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, larut dalam kloroform, agak sukar larut dalam etanol (96%) dan sukar larut dalam eter.

**Suhu lebur.** 148°C.

### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah, sesuai dengan spektrum serapan standar etopabat.
- Pada penetapan kadar, waktu tambat puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan waktu tambat pada puncak utama yang diperoleh dengan larutan (2).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Zat uji 0,040% b/v dalam campuran metanol dan air.

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan (1) sampai 100 volume.

**Larutan (3).** Standar etopabat 0,040% b/v dan standar metil 4-asetamido-2-hidroksibenzoat 0,010% b/v dalam campuran metanol dan air.

**Kolom.**  $\mu$ Bondapak, 10  $\mu$ m, ukuran 30 cm  $\times$  3,9 mm, atau yang sesuai, suhu kolom 45°C.

**Fase gerak.** Campur 30 volume asetonitril, 150 volume metanol dan 450 volume natrium heksanesulfonat 0,15 M, atur pH 2,5 dengan asam fosfat.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 268 nm.

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3), faktor resolusi antara puncak etopabat dan metil 4-asetamido-2-hidroksibenzoat adalah 1,2.

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) elusi area puncak lain sebelum puncak metil 4-asetamido-2-hidroksibenzoat [diidentifikasi oleh puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3)] tidak lebih besar dari 0,1 kali area puncak utama yang diperoleh

dengan larutan (2) (0,1%), area puncak lain selain puncak utama tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (1%) dan jumlah semua area puncak kedua tidak lebih besar dari dua kali lebih area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (2%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1% pada pengeringan dengan suhu 60°C dan tekanan 2 kPa sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.

### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis dengan menggunakan:

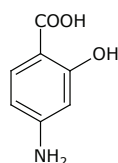
**Larutan (1).** Zat uji 0,002% b/v dalam campuran metanol dan air.

**Larutan (2).** Standar etopabat 0,002% b/v dalam campuran metanol dan air.

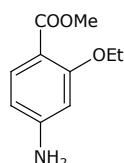
**Larutan (3).** Standar etopabat 0,002% b/v dan standar metil 4-asetamido-2-hidroksibenzoat 0,010% b/v dalam campuran metanol dan air.

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3), faktor resolusi antara puncak etopabat dan metil 4-asetamido-2-hidroksibenzoat sedikitnya 1,2.

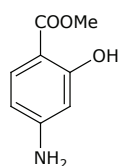
### Ketidakhurnian



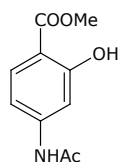
A. Asam 4-aminosalisilat.



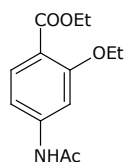
B. Metil 2-etoksi-4-aminobenzoat.



C. Metil 2-hidroksi-4-aminobenzoat.



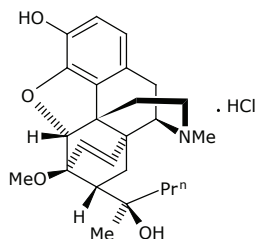
D. Metil 4-asetamido-2-hidroksibenzoat.



E. Etil 4-asetamido-2-etoksibenzoat.

**Khasiat**

Koksidiostat.

**Etorfin Hidroklorida***Etorphine Hydrochloride* $C_{25}H_{33}NO_4 \cdot HCl$ 

BM: 448,0

[13764-49-3]

**Definisi**

Etorfin hidroklorida adalah (6R,7R,14R)-7,8-dihidro-7-[(1R)-1-hidroksi-1-metil butil]-6-O-metil-6,14-etenomorfin hidroklorida.

Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari  $C_{25}H_{33}NO_4 \cdot HCl$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Perhatian**

Etorfin hidroklorida adalah sangat poten, oleh karena itu diperlukan perhatian khusus pada pemakaian. Jika terkena kulit harus segera dicuci bersih. Dalam kejadian terinjeksi atau terserap melalui kulit atau selaput lendir yang luka, maka harus segera dilakukan injeksi antidota.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal halus berwarna putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Agak sukar larut dalam air dan etanol (96%); sangat sukar larut dalam kloroform; praktis tidak larut dalam eter.

**Identifikasi**

A. Serapan cahaya, pada panjang gelombang 230—350 nm dari larutan 0,02% b/v dalam asam hidroklorida 0,1M memperlihatkan serapan maksimum hanya pada 289 nm, dengan nilai 0,68; dan larutan 0,02% b/v dalam natrium hidroksida 0,1M memperlihatkan serapan maksimum pada 302 nm, dengan nilai 1,2.

B. Lakukan kromatografi lapisan-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 10 volume dietilamin, 20 volume etil asetat dan 70 volume toluen.

**Larutan (1).** Zat uji 2,0% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Standar 1,8% b/v dalam metanol.

Totolkan 1  $\mu$ l dari setiap larutan. Tambahkan pada setiap titik 10  $\mu$ l campuran 4 volume metanol dan 1 volume amoniak 13,5M. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya

ultraviolet (254 nm). Semprotkan ke sebagian lempeng campuran 5 volume asam kloroplatinat, 35 volume kalium iodida encer dan 60 volume aseton. Semprotkan lagi ke sebagian lempeng campuran 1 volume besi (III) klorida dan 1 volume kalium heksasianoferat (III) encer.

Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) mempunyai nilai R<sub>f</sub> sekitar 1,15 relatif sama dengan yang diperoleh dengan larutan (2). Serapan cahaya ultraviolet menunjukkan warna violet-kemerahan dengan semprotan iodoplatinat serta warna biru dengan heksasianoferat.

C. Menunjukkan reaksi klorida.

**Keasaman.** Larutan 2,0% b/v, pH 4,0—5,5.

**Rotasi jenis.** Larutkan 0,5 g dalam metanol sampai volume 25 ml, Rotasi jenis adalah -122° sampai -132°, dihitung terhadap zat kering.

**Senyawa sejenis.** Lakukan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G.

**Fase gerak.** Campur 10 volume dietilamin, 20 volume etil asetat dan 70 volume toluen.

**Larutan (1).** Zat uji 2,0% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Zat uji 0,02% b/v dalam metanol.

Totolkan secara terpisah 20  $\mu$ l dari larutan uji tambahkan pada setiap titik 10  $\mu$ l campuran 4 volume metanol dan 1 volume amoniak 13,5M. Angkat lempeng dan keringkan di udara serta semprot dengan larutan iodium 1% b/v dalam metanol. Bercak kedua pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (1%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 4,0% pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.

**Penetapan kadar**

Lakukan titrasi bebas air, menggunakan 0,5 g, tambahkan 7 ml raksa(II)asetat dan gunakan indikator kristal violet. Setiap ml 0,1M asam perklorat setara dengan 44,80 mg  $C_{25}H_{33}NO_4 \cdot HCl$ .

**Penyimpanan**

Etorfin hidroklorida harus dilindungi dari cahaya.

**Khasiat**

Obat penghilang sakit Opioid.

**Etorfin dan Asepromazin Injeksi****Definisi**

Etorfin dan asepromazin injeksi adalah larutan steril etorfin hidroklorida dan asepromazin maleat di dalam air untuk injeksi dan dapat mengandung bahan pengawet yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung etorfin hidroklorida, tidak kurang dari 0,22% dan tidak lebih dari 0,27% b/v. Mengandung asepromazin maleat, tidak kurang dari 0,90% dan tidak lebih dari 1,10% b/v dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Karakteristik

**Pemerian.** Larutan kuning dan jernih.

### Identifikasi

- A. Serapan cahaya, pada panjang gelombang 230—350 nm dari larutan yang disiapkan dengan cara: encerkan sediaan, setara 10 mg asepromazin maleat dalam 500 ml air memperlihatkan maksimum pada 242 nm dan pada 280 nm. Serapan maksimum sekitar 1,1 dan sekitar 0,85 berturut-turut.
- B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis menggunakan:

**Lempeng.** Silika GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Etil asetat.

**Larutan (1).** Zat uji 0,09% b/v dalam kloroform.

**Larutan (2).** Standar diprenorfin 0,09% b/v dalam kloroform.

Totolkan 10 µl secara terpisah dari setiap larutan pada setengah lempeng. Tambahkan ke setiap penotolan 10 µl campuran dari 4 volume metanol dan 1 volume amonia 13,5M. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Semprot setengah lempeng dengan campuran dari 5 volume asam kloroplatinat, 35 volume kalium iodida encer dan 60 volume aseton. Semprotkan lagi pada setengahnya lagi dengan campuran dari 1 volume besi (III) klorida dan 1 volume kalium heksasianoferrat (III) encer. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) mempunyai nilai R<sub>f</sub> sekitar 1,15 sesuai dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (2). Serapan cahaya ultraviolet, terlihat warna violet kemerah-merahan dengan semprotan iodoplatinat serta warna biru dengan semprotan kalium besi heksasianida.

**Keasaman.** pH 3,5—4,5.

### Penetapan kadar

**Etorfin hidroklorida.** Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan standar internal.** Larutkan 46 mg standar diprenorfin dalam 10 ml metanol (larutan A).

**Larutan (1).** Tambahkan 1 ml larutan A ke dalam 2 ml sediaan dan 2 ml amonia 5M, Ekstraksi tiga kali, masing-masing 7 ml kloroform, aduk dengan 2 g natrium sulfat anhidrat, saring. Uapkan hasil saringan sampai volume kecil. Pada larutan tambah 2 ml kloroform dan uapkan sampai kering. Pada residu, tambahkan 1 ml campuran 8 volume dimetilformamid, 2 volume N,O-bis(trimetilsilil)-setamida dan 1 volume trimetilklorosilan biarkan selama 15 menit.

**Larutan (2).** Sediaan setara 4,9 mg etorfin hidroklorida, lakukan dengan cara yang sama tetapi hilangkan penambahan larutan A.

**Kolom.** Gelas berisi SE 30 (1,5 m × 4 mm) 80—100

mesh atau yang sesuai pada suhu 245°C.

**Detektor.** Flame ionization (FID).

**Sepromazin maleat.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan: Pada 1 ml sediaan, tambah etanol (96%) sampai batas volume 100 ml. Ukur serapan larutan pada panjang gelombang 370 nm.

### Penyimpanan

Etorfin dan asepromazin injeksi harus dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Indikasi, 3) Kadaluwarsa 4) Kondisi penyimpanan.

## Etorfin dan Levomepromazin Injeksi

### Definisi

Etorfin dan levomepromazin injeksi adalah larutan steril etorfin hidroklorida serta levomepromazin di dalam air untuk injeksi berisi stabiliser yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung etorfin hidroklorida, tidak kurang dari 0,0066% b/v dan tidak lebih dari 0,0082% b/v. Mengandung levomepromazin tidak kurang dari 1,6% b/v dan tidak lebih dari 2,0% b/v.

### Karakteristik

**Pemerian.** Larutan jernih tidak berwarna atau kuning pucat.

### Identifikasi

- A. Pada 2 ml sediaan, tambah 2 ml natrium hidroksida 5M, ekstraksi dua kali, masing-masing 5 ml sikloheksan dan uapkan ekstrak sampai kering. Spektrum serapan inframerah dari residu, sesuai dengan spektrum serapan standar levomepromazin.
- B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** etil asetat.

**Larutan (1).** Pada 2 ml sediaan, tambah 2 ml amonia 5M, ekstraksi dua kali, masing-masing 5 ml kloroform, aduk ekstrak kloroform dengan natrium sulfat anhidrat dan saring. Uapkan hasil saringan sampai kering. Larutkan residu dalam 0,4 ml kloroform.

**Larutan (2).** Standar etorfin 0,032% b/v dalam kloroform.

Totolkan secara terpisah 10 µl dari setiap larutan. Tambahkan pada setiap titik penotolan 10 µl campuran dari 4 volume metanol dan 1 volume amonia 13,5M. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa di bawah cahaya ultraviolet (254 nm). Semprot setengah lempeng dengan campuran 5 volume asam kloroplatinat, 35 volume dari kalium iodida encer dan 60 volume aseton. Semprotkan lagi pada setenga lempeng dengan campuran 1 volume besi (III) klorida dan 1 volume kalium besi (III) heksasianida encer. Bercak utama pada

kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) mempunyai Rf sekitar 1,15 sesuai dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (2). Serapan cahaya ultraviolet, terlihat warna violet kemerah-merahan dengan semprotan iodoplatinat serta warna biru dengan semprotan besi-heksasianida.

**Keasaman.** pH 3,5—4,5.

#### Penetapan kadar

**Etorfin hidroklorida.** Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Laruran standar internal.** Larutkan 46 mg standar etorfin dalam 50 ml metanol (larutan A).

**Larutan (1).** Tambahkan 1 ml larutan A dan 2 ml amonia 5 M kedalam 10 ml sediaan injeksi, ekstraksi tiga kali, masing-masing 15 ml kloroform, aduk ekstrak dengan 5 g natrium sulfat anhidrat dan saring. Uapkan hasil saringan sampai volume kecil menggunakan rotavapor. Transfer ke dalam tabung dengan bantuan 2 ml kloroform dan uapkan hingga kering. Pada residu, tambahkan 1 ml campuran dari 8 volume dimetilformamid, 2 volume N,O-bis(trimetilsilil)-setamida dan 1 volume trimetilklorosilan biarkan selama 15 menit.

**Larutan (2).** Sediaan injeksi setara 4,9 mg etorfin hidroklorida, lakukan dengan cara yang sama seperti larutan (1) tetapi hilangkan penambahan larutan A.

**Kolom.** Gelas OV 17 (1,5 m × 4 mm) 80—100 mesh atau yang sesuai pada suhu 245°C.

**Detektor.** Flame-ionisation detector (FID), detektor ionisasi nyala.

**Levomepromazin.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan: Pada 1 ml sediaan, tambah asam hidroklorida 0,1 M hingga 500 ml.

Ukur serapan larutan maksimum pada 302 nm.

#### Penyimpanan

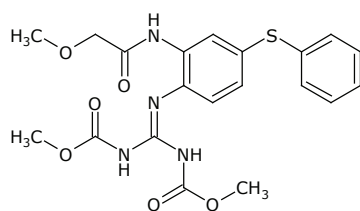
Etorfin dan levomepromazin injeksi harus dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Indikasi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

## Febantel

*Febantel*



$C_{20}H_{22}N_4O_6S$

BM: 446,5

[58306-30-28]

#### Definisi

Febantel adalah dimetil N,N'-[[[2-[(metoksi asetil)ameno]-4-(fenilsulfanyl)fenil]imeno]metilen]dikarbamat.

Mengandung tidak kurang dari 97,5% dan tidak lebih dari 102,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, larut dalam aseton, agak sukar larut dalam etanol anhidrat. Terlihat polimorfism.

#### Identifikasi

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar febantel. Jika spektrum yang diperoleh zat padat menunjukkan perbedaan, larutkan zat uji dan zat standar secara terpisah dalam aseton, uapkan sampai kering dan ukur spektrum dari residu.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pelarut.** Asetonitril dan tetrahidrofuran (50:50 v/v).

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam pelarut sampai volume 10,0 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 5,0 ml larutan uji (a) dengan pelarut sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 1,0 ml larutan uji (a) dengan pelarut sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan pelarut sampai batas volume 10,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 50,0 mg standar febantel dalam pelarut sampai volume 10,0 ml. Encerkan 5,0 ml larutan dengan pelarut sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 15 mg standar febantel untuk kesesuaian sistem (mengandung ketidakh murnian A, B dan C) dalam pelarut sampai batas volume 50,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5  $\mu$ m, ukuran 0,15 m x 3,9 mm.

**Fase gerak.** Campur 650 ml larutan (6,8 g kalium dihidrogen fosfat dalam 1000 ml air) dengan 350 ml asetonitril.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

**Injek.** 10  $\mu$ l larutan uji (a) dan larutan standar (a) dan (c).

**Waktu uji.** 1,5 kali waktu tambat febantel.

**Elusi.** Ketidakh murnian A, ketidakh murnian B, ketidakh murnian C, febantel.

**Waktu tambat.** Febantel sekitar 32 menit.

#### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (c).** Resolusi minimum 3,0 antara puncak ketidakh murnian A dan B serta minimum 4,0 antara puncak ketidakh murnian B dan C.

#### Batas

**Ketidakh murnian A, B, C.** Untuk setiap ketidakh murnian, tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,1%).

**Ketidakh murnian tak ditentukan.** Untuk setiap keti-

dakmurnian, tidak lebih dari dua kali lebih area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,20%).

**Total.** Tidak lebih dari 5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,5%).

**Abaikan batas.** 0,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,05%).

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

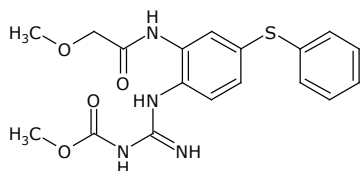
**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5% pada pengeringan dengan suhu 105°C. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

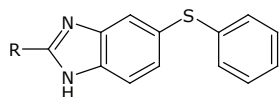
### Penetapan kadar

Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis dengan cara: Injek larutan uji (b) dan larutan standar (b).

### Ketidakmurnian



A. Metil[[2-[(metoksiasetil)amino]-4-(fenilsulfanil)fenil]karbamimidoil]karbamat.



B. R = CH<sub>2</sub>-OCH<sub>3</sub>; 2-(metoksimetil)-5-(fenilsulfanil)-1H-benzimidazol.

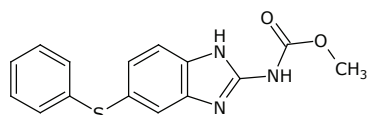
C. R = NH-CO-OCH<sub>3</sub>; metil[5-(fenilsulfanil)-1H-benzimidazol-2-il]karbamat (fenbendazol).

### Khasiat

Obat cacing.

## Fenbendazol

*Fenbendazole*



C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S

BM: 299,4

[43210-67-9]

### Definisi

Fenbendazol mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari metil [5-(fenilsulfanil)-1H-benzimidazol-2-il]karbamat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak dapat larut dalam air, agak sukar larut dalam dimetilformamid, sangat sukar larut dalam metanol.

### Identifikasi

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar fenbendazol.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 50,0 mg zat uji dengan metanolik-asam klorida sampai volume 10,0 ml

**Larutan standar (a).** Larutkan 50,0 mg standar fenbendazol dengan metanolik-asam klorida sampai volume 10,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan metanol sampai batas volume 200,0 ml. Encerkan 5,0 ml larutan kedua dengan metanolik-asam klorida sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan 10,0 mg standar fenbendazol ketidakmurnian A dalam 100,0 ml metanol. Encerkan 1,0 ml larutan dengan metanolik-asam klorida sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan 10,0 mg standar fenbendazol ketidakmurnian B dalam 100,0 ml metanol. Encerkan 1,0 ml larutan dengan metanolik-asam klorida sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan 10,0 mg standar fenbendazol dan 10,0 mg standar mebendazol dalam 100,0 ml metanol. Encerkan 1,0 ml larutan ini dengan metanol hidroklorida sampai volume 10,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5 µm, ukuran 0,25 m x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Fase gerak A.** Campur 1 volume asam asetat glasial, 30 volume metanol dan 70 volume air.

**Fase gerak B.** Campur 1 volume asam asetat glasial, 30 volume air dan 70 volume metanol.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)	Keterangan
0 – 10	100 → 0	0 → 100	Linier gradien
10 – 40	0	100	Isokratik
40 – 50	0 → 100	100 → 0	Re-ekuilibrisasi

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

Waktu tambat pada kromatogram untuk fenbendazole sekitar 19 menit.

**Injek.** 10 µl dari setiap larutan. Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (d), resolusi antara puncak fenbendazol dan mebendazol sedikitnya 1,5.

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, area puncak ketidakmurnian A dan B tidak lebih besar 2,5 kali area puncak bersesuaian yang diperoleh dengan larutan standar (b) dan (c) (0,5%), area puncak lain, selain puncak utama pada ketidakmurnian A dan B berturut-turut, tidak lebih besar dua kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan

larutan standar (a) (0,5%), jumlah semua area puncak, selain dari puncak utama, tidak lebih besar 4 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (1%). Abaikan puncak lain kurang dari 0,2 kali puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a).

**Logam berat.** Pada 1,0 g memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,3%. Gunakan 1g.

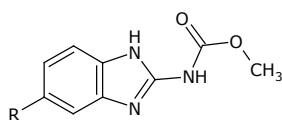
### Penetapan kadar

Larutkan 0,2 g pada 30 ml asam asetat glasial, jika perlu panaskan dengan perlahan-lahan. Dinginkan dan titrasi dengan asam perklorat 0,1 M, tentukan titik-akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 29,94 mg  $C_{15}H_{13}N_3O_2S$ .

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Ketidakhurnian



A. R = H: Metil (1H-benzimidazol-2-il)karbamat.

B. R = Cl: Metil(5-kloro-1H-benzimidazol-2-il)karbamat.

### Khasiat

Obat cacing.

## Fenbendazol Granul

### Definisi

Fenbendazol granul adalah fenbendazol yang dicampur dengan pembawa yang sesuai.

Granul memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam sediaan granul dan persyaratan berikut.

Mengandung fenbendazol,  $C_{15}H_{13}N_3O_2S$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

A. Pada penetapan kadar, waktu tambat puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) adalah sama dengan puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2).

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel F<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 2,5 volume air, 6,5 volume aseton, 26 volume 13,5M amonia dan 65 volume toluen.

**Larutan (1).** Sediaan setara dengan 80 mg fenbendazol, tambah 80 ml metanolik-asam hidro-

klorida 0,1 M, campur dengan bantuan sonikasi selama 90 menit, dinginkan dan encerkan dengan pelarut yang sama sampai batas volume 100 ml, campur dan saring melalui kertas saring 0,4- $\mu$ m (Whatman GF/C) atau yang sesuai. Gunakan hasil saringan.

**Larutan (2).** Standar fenbendazol 0,08% b/v dalam metanolik-asam hidroklorida 0,1 M.

Totolkan secara terpisah 5  $\mu$ l dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara selama 10 menit, panaskan pada suhu 100°C selama 5 menit dan periksa di bawah cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan (2).

**Ketidakhurnian A, B dan C.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Pada sediaan setara dengan 80 mg fenbendazol, tambah 80 ml metanolik-asam hidroklorida 0,1 M, campur dengan bantuan sonikasi selama 90 menit, dinginkan dan encerkan sampai batas volume 100 ml dengan pelarut yang sama, campur dan saring melalui kertas saring 0,4- $\mu$ m (Whatman GF/C) atau yang sesuai. Gunakan hasil saringan.

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan standar ketidakhurnian fenbendazol A (metil (1H-benzimidazol-2-il)karbamat) 0,0010% b/v dalam metanolik-asam hidroklorida 0,1 M dengan 2 volume metanol (65%).

**Larutan (3).** Encerkan 1 volume larutan ketidakhurnian fenbendazol B (metil (5-kloro-1H-benzimidazol-2-il)karbamat) 0,0010% b/v dalam metanolik-asam hidroklorida 0,1 M dengan 2 volume metanol (65%).

**Larutan (4).** Encerkan 1 volume larutan ketidakhurnian fenbendazol C (5-feniltio)-2-aminobenzimidazol) 0,0010% b/v dalam metanolik-asam hidroklorida 0,1 M dengan 2 volume metanol (65%).

**Larutan (5).** Encerkan 1 volume larutan yang masing-masing mengandung 0,002% b/v standar ketidakhurnian fenbendazol A, ketidakhurnian fenbendazol B, ketidakhurnian fenbendazol C dan 0,20% b/v standar fenbendazol dalam metanolik-asam hidroklorida 0,1 M dengan 2 volume metanol (65%).

**Kolom.** Nucleosil C18, 5 $\mu$ m, ukuran 25 cm  $\times$  4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Fase gerak.** Campur 350 volume natrium dihidrogen fosfat 0,5% b/v dan 650 volume metanol (mengandung 1,88 g natrium heksansulfonat, atur pH 3,5 dengan asam fosfat).

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

**Injek.** 20  $\mu$ l dari setiap larutan.

Uji tidak absah kecuali jika kromatogram yang diperoleh dengan larutan (5) sesuai dengan standar kromatogram fenbendazol. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1), area puncak yang lain sesuai dengan fenbendazol ketidakhurnian A,

ketidakmurnian fenbendazol B dan ketidakmurnian fenbendazol C dan tidak lebih besar dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2), (3) dan (4) berturut-turut (masing-masing 0,5%).

#### Penetapan kadar

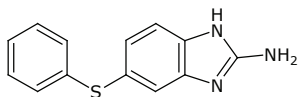
Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Pada sediaan setara dengan 80 mg fenbendazol, tambah 80 ml metanolik-asam hidroklorida 0,1 M, campur dengan bantuan sonikasi selama 90 menit, dinginkan dan encerkan sampai batas volume 100 ml dengan pelarut yang sama, campur dan saring melalui kertas saring 0,4- $\mu$ m (Whatman GF/C) atau yang sesuai. Gunakan hasil saringan. Encerkan 5 volume dengan 50 volume asam hidroklorida 0,1 M dalam metanol (85%).

**Larutan (2).** Standar fenbendazol 0,01% b/v dalam campuran 1 volume asam hidroklorida 0,1 M dan 1 volume metanol (85%).

Kolom dan detektor seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis. Hitung kadar total  $C_{15}H_{13}N_3O_2S$  sediaan dari kromatogram yang di peroleh dengan menggunakan kadar  $C_{15}H_{13}N_3O_2S$  standar fenbendazol.

#### Ketidakhurnian



5-(Feniltio)-2-aminobenzimidazol.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Indikasi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

### Fenbendazol Pasta

#### Definisi

Fenbendazol pasta mengandung fenbendazol dalam suatu pembawa yang sesuai untuk pemberian oral.

Pasta memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan pasta dan persyaratan berikut.

Mengandung fenbendazol,  $C_{15}H_{13}N_3O_2S$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

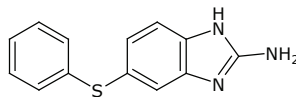
Pada penetapan kadar, waktu tambat puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) adalah sesuai dengan puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2).

**Ketidakhurnian A, B dan C.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, seperti yang tertera dalam fenbendazol granul.

#### Penetapan kadar

Lakukan penetapan kadar dengan metode kromatografi cair, seperti yang tertera dalam fenbendazol granul menggunakan sediaan setara dengan 0,1 g fenbendazol.

#### Ketidakhurnian



5-(feniltio)-2-aminobenzimidazol.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) indikasi, 3) Kadaluwarsa 4) Kondisi penyimpanan.

### Fenbendazol Serbuk Oral

#### Definisi

Fenbendazol serbuk oral mengandung fenbendazol dengan pembawa yang sesuai.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut.

Mengandung fenbendazol,  $C_{15}H_{13}N_3O_2S$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

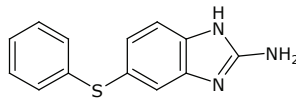
Lakukan seperti yang tertera dalam fenbendazol granul.

**Ketidakhurnian A, B dan C.** Lakukan seperti yang tertera dalam fenbendazol granul.

#### Penetapan kadar

Lakukan seperti yang tertera dalam fenbendazol granul menggunakan sediaan setara dengan 0,1 g fenbendazol.

#### Ketidakhurnian



5-(Feniltio)-2-aminobenzimidazol.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Indikasi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

### Fenbendazol Suspensi Oral

#### Definisi

Fenbendazol suspensi oral suspension mengandung suspensi fenbendazol dalam pembawa yang sesuai. Suspensi oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan cair oral dan persyaratan berikut.

Mengandung fenbendazol,  $C_{15}H_{13}N_3O_2S$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera dalam etiket.

#### Identifikasi

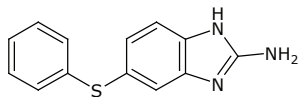
Lakukan seperti yang tertera dalam fenbendazol granul.

**Ketidakhurnian A, B dan C.** Lakukan seperti yang tertera dalam fenbendazol granul.

#### Penetapan kadar

Lakukan seperti yang tertera dalam fenbendazol granul menggunakan sediaan setara dengan 0,1 g fenbendazol



**Ketidakhurnian**

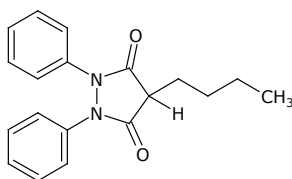
5-(feniltio)-2-aminobenzimidazol.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Indikasi, 3) Kadaluwarsa  
4) Kondisi penyimpanan.

## Fenilbutazon

*Phenylbutazone*

C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

BM: 308,4

[50-33-9]

**Definisi**

Fenilbutazon adalah 4-butyl-1,2-difenil pirazolidin-3,5-dion.

Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, agak sukar larut dalam alkohol. Larut dalam larutan alkali.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: A, C.

Identifikasi kedua: A, B, D.

A. Suhu lebur 104°—107°C.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25 mg zat uji dalam campuran etanol dan metilen klorida dengan volume yang sama sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 25 mg standar fenilbutazon dalam dalam campuran etanol dan metilen klorida dengan volume yang sama sampai batas volume 25,0 ml.

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Aseton dan metilen klorida (20:80 v/v).

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dibawah cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm.

**Hasil.** Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat dan ukuran bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar.

C. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar fenilbutazon.

D. Pada 0,1 g tambah 1 ml asam asetat glasial dan 2 ml asam hidroklorida dan panaskan dengan bantuan refluks kondensor selama 30 menit. Dinginkan, tambah 10 ml air dan saring. Pada hasil saringan tambah 3 ml natrium nitrit (7 g/l). Terbentuk warna kuning. Pada 1 ml larutan tambah 10 mg α-naftol dalam 5 ml larutan natrium karbonat. Terbentuk endapan merah kecoklatan sampai merah violet.

**Larutan S.** Larutkan 1,0 g dalam 20 ml natrium hidroksida encer, kocok dan diamkan pada suhu 25°C selama 3 jam.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih.

**Keasaman-kebasaan.** Larutkan 1,0 g zat uji dalam 50 ml air dengan bantuan pemanasan, dinginkan dan saring. Pada 25 ml hasil saringan tambah 0,5 ml larutan fenoltalein. Terbentuk larutan tidak berwarna. Tidak lebih dari 0,5 ml natrium hidroksida 0,01 M yang diperlukan untuk mengubah warna indikator. Tambah 0,6 ml asam hidroklorida 0,01 M dan 0,1 ml larutan merah metil, terbentuk larutan merah atau orange.

**Serapan cahaya.** Tidak lebih dari 0,20 untuk larutan S pada panjang gelombang 420 nm dalam 4 cm sel.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 100,0 mg zat uji dalam asetonitril sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan asetonitril sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml dengan asetonitril sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan 5 mg standar fenilbutazon ketidakhurnian B dan 5 mg 1,2-difenilhidrazin dalam asetonitril, tambah 0,5 ml larutan uji dan encerkan dengan asetonitril sampai batas volume 50 ml. Encerkan 2,5 ml dengan asetonitril sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 1,0 mg benzidin dalam asetonitril sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml dengan asetonitril sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 5,0 ml dengan asetonitril sampai volume 10,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5 µm, ukuran 0,125 m x 4,0 mm, atau yang sesuai. Suhu kolom 30°C.

**Fase gerak A.** Larutkan 1,36 g natrium asetat dalam air, atur pH 5,2 dengan asam sitrat 52,5 g/l dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Fase gerak B.** Asetonitril.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0 – 10	70	30
10 – 20	70 → 40	30 → 60
20 – 35	40	60
35 – 40	40 → 70	60 → 30

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 240 nm.

**Injek.** 20 µl larutan uji dan larutan standar (a) dan (b).

**Waktu tambat relatif.** Fenilbutazon sekitar 13 menit, ketidakh murnian E sekitar 0,2, ketidakh murnian A sekitar 0,5, ketidakh murnian B sekitar 1,2, ketidakh murnian C sekitar 1,3, ketidakh murnian D sekitar 1,7.

#### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (b).** Resolusi minimum 2,0 antara puncak fenilbutazon dan ketidakh murnian B.

#### Batas

**Faktor-koreksi.** Mengalikan area puncak ketidakh murnian C dengan 0,55.

**Ketidakh murnian A, B.** Untuk setiap ketidakh murnian, tidak lebih dari 2,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,25%).

**Ketidakh murnian C.** Tidak lebih dari dua kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,20%).

**Ketidakh murnian lain.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,1%)

**Total.** Tidak lebih dari 5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,5%).

**Abaikan batas.** 0,25 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,025%), abaikan puncak lain pada ketidakh murnian E.

**Ketidakh murnian E.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis, dengan modifikasi berikut:

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

**Injek.** Larutan uji dan larutan standar (c).

#### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (c).** Perbandingan signal-to-noise minimum 10 untuk puncak utama.

#### Batas

**Ketidakh murnian E.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (5 ppm).

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Pada 1,0 g memenuhi uji batas C untuk logam berat (20 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,2%. Pada pengeringan secara vakum dengan suhu 80°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

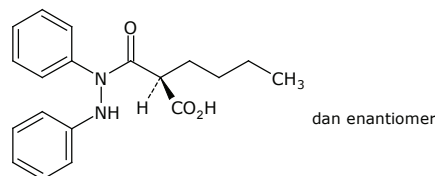
Larutkan 0,25 g dalam 25 ml aseton dan tambah 0,5 ml bromotimol biru. Titrasi dengan natrium hidroksida

0,1 M sampai terbentuk warna biru selama 15 detik. Lakukan titrasi blanko. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 30,84 mg  $C_{19}H_{20}N_2O_2$ .

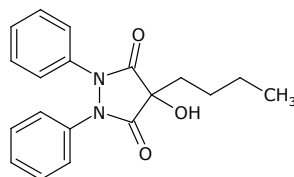
#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakh murnian



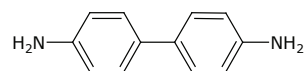
A. Asam (2RS)-2-[(1,2-difenildiazanil)karbonil] heksanoat.



B. 4-butyl-4-hidroksi-1,2-difenilpirazolidin-3,5-dion.

C.  $C_6H_5-NH-NH-C_6H_5$ : 1,2-difenildiazan, (1,2-difenilhidrazina).

D.  $C_6H_5-N=N-C_6H_5$ : 1,2-difenildiazan.



E. Bifenil-4,4'-diamina (benzidin).

#### Khasiat

Anti radang dan analgesik.

### Fenilbutazon Tablet

#### Definisi

Fenilbutazon tablet adalah tablet bersalut gula atau selaput dalam pembawa yang sesuai.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut.

Mengandung fenilbutazon tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% sebagai  $C_{19}H_{20}N_2O_2$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

Ekstraksi sediaan setara dengan 0,2 g fenilbutazon dengan 40 ml aseton, saring dan uapkan hasil saringan sampai kering. Residu memenuhi syarat berikut:

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar fenilbutazon.

B. Pada 0,1 g residu tambah 1 ml asam asetat glasial dan 2 ml asam klorida, panaskan diatas penangas air selama 30 menit. Dinginkan, tambah 10 ml air dan saring. Pada hasil saringan, tambah 3 ml natrium nitrit 0,1M, terbentuk warna kuning. Pada 1 ml larutan tambah 5 ml larutan 2-naftol, terbentuk endapan merah kecoklatan yang larut dengan

penambahan etanol (96%) dan menghasilkan warna merah.

**Disolusi.** Memenuhi syarat tablet dan kapsul, dengan menggunakan 1000 ml medium yang mengandung kalium hidrogen ortofosfat 0,68% b/v, atur pH 7,5 dengan natrium hidroksida 1M. Ukur serapan maksimum pada panjang gelombang 264 nm, bila perlu encerkan. Hitung kandungan  $C_{19}H_{20}N_2O_2$  dalam medium pada maksimum 264 nm.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 5 volume kloroform, 4 volume sikloheksan dan 1 volume asam asetat glasial yang mengandung butil hidroksitoluen 0,02% v/v. Angkat lempeng kromatografi dan keringkan dengan aliran udara dingin. Tanpa terpapar karbondioksida.

**Totolkan.** 3 µl dari setiap larutan.

**Larutan (1).** Kocok sediaan setara dengan 0,1 g fenilbutazon dengan 3 ml kloroform yang mengandung butil hidroksitoluen 0,02% b/v, sentrifus dan gunakan supernatan.

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan (1) dengan pelarut sama sampai konsentrasi fenilbutazon 0,5 mg/ml.

Paparkan lempeng dengan karbondioksida selama 2 menit dan masukan ke dalam larutan pengembang. Keringkan lempeng dengan udara dan periksa dibawah cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm. Setiap bercak pada lempeng yang didapat dengan larutan (1), dan bercak endapan lain tidak lebih kuat intensitas warnanya dari bercak yang diperoleh dengan larutan (2).

#### Penetapan kadar

Pada sediaan, setara dengan 0,5 g fenilbutazon, ekstraksi 4 kali, masing-masing 30 ml, 30 ml, 15 ml dan 15 ml aseton, saring. Dinginkan hasil saringan, titrasi dengan natrium hidroksida 0,1M menggunakan biru bromtimol sebagai indikator. Titik akhir ditentukan setelah warna biru tetap selama tidak kurang dari 30 detik. Lakukan titrasi blanko. Setiap ml titran setara dengan 30,84 mg  $C_{19}H_{20}N_2O_2$ .

#### Penyimpanan

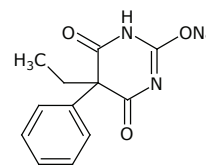
Dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Fenobarbital Natrium

*Phenobarbital Sodium*



$C_{12}H_{11}N_2NaO_3$

BM: 254,2

[57-30-7]

#### Definisi

Fenobarbital natrium mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari natrium derivatif dari 5-etil-5-fenilpirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-trion, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih, higroskopik.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air bebas karbondioksida, larut dalam alkohol, praktis tidak larut metilen klorida.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B, E.

Identifikasi kedua: A, C, D, E.

- Asamkan 10 ml larutan S (lihat uji) dengan asam hidroklorida encer dan kocok dengan 20 ml eter. Pisahkan lapisan eter, bilas dengan 10 ml air, keringkan di atas natrium sulfat anhidrat dan saring. Evaporasikan hasil saringan sampai mendekati kering. Keringkan residu pada suhu 100°—105°C. Tentukan suhu lebur dari uji residu. Campurkan residu dan standar fenobarbital serta tentukan suhu lebur campuran. Perbedaan antara kedua suhu (sekitar 176°C) tidak lebih besar dari 2°C.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar fenobarbital natrium. Jika spektrum yang diperoleh zat padat menunjukkan perbedaan, larutkan zat uji dan zat standar secara terpisah dalam etanol, uapkan sampai kering dan catat spektrum baru yang diperoleh dari residu.
- Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam alkohol 50% v/v sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar.** Larutkan 90 mg standar fenobarbital natrium dalam alkohol 50% v/v sampai batas volume 100 ml.

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan.

**Fase gerak.** Campur 5 volume amoniak pekat, 15 volume alkohol dan 80 volume kloroform.

Periksa dibawah cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai tempat dan ukuran bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan

standar.

D. Memberikan reaksi terhadap nitrogen (pengganti barbiturat).

E. Memberikan reaksi natrium.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 5,0 g dalam alkohol 50% v/v sampai batas volume 50 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar Y<sub>7</sub>.

**pH.** Larutkan dan encerkan 5,0 g air bebas karbon dioksida sampai batas volume 50 ml. pH larutan tidak lebih besar dari 10,2.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam alkohol 50% v/v sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar.** Larutkan 90 mg standar fenobarbital natrium dalam alkohol 50% v/v sampai batas volume 100 ml.

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

Totolkan 20 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan.

**Fase gerak.** Campur 5 volume amoniak pekat, 15 volume alkohol dan 80 volume kloroform.

Periksa dibawah cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm. Semprot dengan raksa (II) difenilkarbazon. Angkat lempeng, keringkan di udara dan semprot dengan larutan kalium hidroksida-alkohol (yang baru saja disiapkan) encerkan 1 dari 5 dengan alkohol bebas aldehyd. Panaskan pada suhu 100°—105°C selama 5 menit dan periksa dengan segera. Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, selain dari bercak utama, tidak lebih kuat dibandingkan bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (0,5%). Abaikan bercak lain di titik awal.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 7,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 0,5 g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,15 g dalam 2 ml air dan tambah 8 ml asam sulfat 0,05 M. Panaskan dan dinginkan. Tambah 30 ml metanol dan kocok. Titrasi secara potensiometrik menggunakan natrium hidroksida 0,1 M. Setelah titik pertama infleksi, penambahan natrium hidroksida, tambah 10 ml piridin, aduk dan lanjutkan titrasi. Catat volume yang ditambahkan antara kedua titik infleksi. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 25,42 mg C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>3</sub>.

#### Penyimpanan

Kedap udara.

#### Khasiat

Antikonvulsan.

## Fenobarbital Natrium Injeksi

### Definisi

Fenobarbital natrium injeksi adalah suspensi steril fenobarbital natrium dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Injeksi fenobarbital natrium mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

A. Asamkan 10 ml larutan S (lihat uji) dengan asam hidroklorida encer dan kocok dengan 20 ml eter. Pisahkan lapisan eter, bilas dengan 10 ml air, keringkan di atas natrium sulfat anhidrat dan saring. Evaporasikan hasil saringan sampai mendekati kering. Keringkan residu pada suhu 105°C. Tentukan suhu lebur dari uji residu. Campurkan residu dan standar fenobarbital serta tentukan suhu lebur campuran. Perbedaan antara kedua suhu (sekitar 176°C) tidak lebih besar dari 2°C.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam alkohol 50% v/v sampai volume 100 ml.

**Larutan standar.** Larutkan 90 mg standar fenobarbital natrium dalam alkohol 50% v/v sampai batas volume 100 ml.

**Fase gerak.** Campur 5 volume amoniak pekat, 15 volume alkohol dan 80 volume kloroform.

Totolkan secara terpisah 10 µl dari setiap larutan. Periksa dibawah cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai tempat dan ukuran bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar.

C. Memberikan reaksi terhadap nitrogen (pengganti barbiturat).

D. Memberikan reaksi natrium

**Kebasaan.** pH 10—11.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam alkohol 50% v/v sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar.** Larutkan 90 mg standar fenobarbital natrium dalam alkohol 50% v/v sampai batas volume 100 ml.

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai. Totolkan 20 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan.

**Fase gerak.** Campur 5 volume amoniak pekat, 15 volume alkohol dan 80 volume kloroform.

Periksa dibawah cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm. Semprot dengan raksa (II)

difenilkarbazon. Angkat lempeng, keringkan di udara dan semprot dengan larutan kalium hidroksida-alkohol (yang baru saja disiapkan) encerkan 1 dari 5 dengan alkohol bebas aldehid. Panaskan pada suhu 105°C selama 5 menit dan periksa dengan segera. Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, selain dari bercak utama, tidak lebih kuat dibandingkan bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (0,5%). Abaikan bercak di titik awal.

#### Penetapan kadar

Pada sediaan setara dengan 0,15 g dalam 2 ml air dan tambah 8 ml asam sulfat 0,05M. Panaskan dan dinginkan. Tambah 30 ml metanol dan kocok. Titrasi secara potensiometrik menggunakan natrium hidroksida 0,1M. Setelah titik pertama infleksi, tambah 10 ml piridin, aduk dan lanjutkan titrasi. Catat volume yang antara kedua titik infleksi. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 25,42 mg  $C_{12}H_{11}N_2NaO_3$ .

#### Penyimpanan

Wadah kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Fenobarbital Natrium Tablet

#### Definisi

Fenobarbital natrium tablet mengandung fenobarbital natrium dalam pembawa yang sesuai.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket

#### Identifikasi

- Asamkan 10 ml larutan S (lihat uji) dengan asam hidroklorida encer dan kocok dengan 20 ml eter. Pisahkan lapisan eter, bilas dengan 10 ml air, keringkan di atas natrium sulfat anhidrat dan saring. Evaporasikan hasil saringan sampai mendekati kering. Keringkan residu pada suhu 100°–105°C. Tentukan suhu lebur dari uji residu. Campurkan residu dan standar fenobarbital serta tentukan suhu lebur campuran. Perbedaan antara kedua suhu (sekitar 176°C) tidak lebih besar dari 2°C.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar fenobarbital natrium. Jika spektrum yang diperoleh zat padat menunjukkan perbedaan, larutkan zat uji dan zat standar secara terpisah dalam etanol, uapkan sampai kering dan catat spektrum baru yang diperoleh dari residu.
- Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam alkohol 50% v/v sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar.** Larutkan 90 mg standar fenobarbital natrium dalam alkohol 50% v/v sampai batas volume 100 ml.

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan.

**Fase gerak.** Campur 5 volume amoniak pekat, 15 volume alkohol dan 80 volume kloroform.

Periksa dibawah cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai tempat dan ukuran bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar.

D. Memberikan reaksi terhadap nitrogen (pengganti barbiturat).

E. Memberikan reaksi natrium

#### Penetapan kadar

Larutkan sediaan setara dengan 0,3 g fenobarbital natrium dengan 10 ml larutan natrium hidroksida 2% b/v, jenuhkan dengan natrium klorida, asamkan dengan asam klorida. Ekstraksi beberapa kali dengan masing-masing 15 ml eter. Cuci ekstrak 2 kali masing-masing dengan 2 ml air, cuci air cucian dengan 10 ml eter. Saring ekstrak eter, dan uapkan ekstrak sampai kering. Panaskan residu pada suhu 105°C sampai didapat bobot tetap. Setiap g residu setara dengan 1,095 g  $C_{12}H_{11}N_2NaO_3$ .

#### Penyimpanan

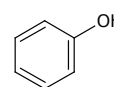
Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Fenol

Phenol



$C_6H_6O$

BM: 94,1

[108-95-2]

#### Definisi

Fenol mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5% dari  $C_6H_6O$ .

#### Karakteristik

**Pemerian.** Kristal padat tidak berwarna, merah muda terang atau kekuningan.

**Kelarutan.** Larut dalam air, sangat mudah larut dalam alkohol, gliserol dan metilen klorida.

#### Identifikasi

A. Larutkan 0,5 g dalam 2 ml amoniak pekat dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml.

Pada 2 ml larutan tambah 0,05 ml larutan natrium hipoklorit pekat. Terbentuk warna biru dan intensitas warnanya semakin kuat.

- B. Pada 1 ml larutan S, tambah 10 ml air dan 0,1 ml larutan besi (III) klorida. Terbentuk warna violet yang hilang dengan penambahan 5 ml 2-propanol.
- C. Pada 1 ml larutan S, tambah 10 ml air dan 1 ml air-brom jenuh (campurkan 3 ml brom dengan 100 ml air, aduk selama 24 jam dan biarkan terpisah). Terbentuk warna kuning pucat.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam air sampai volume 15 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar B<sub>6</sub>.

**Keasaman.** Pada 2 ml larutan, tambah 0,05 ml larutan metil orange. Larutan adalah kuning.

**Suhu beku.** Tidak kurang dari 39,5°C.

**Residu evaporasi.** Tidak lebih dari 0,05%, pada pengeringan dengan evaporator 5,0 g sampai mendekati kering di atas penangas air dengan suhu 105°C selama 1 jam.

#### Penetapan kadar

Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air sampai batas volume 1000,0 ml. Pindahkan 25,0 ml larutan dalam botol dan tambah 50,0 ml bromat-bromida 0,0167 M dan 5 ml asam hidroklorida, sumbat botol, diamkan sambil diaduk selama 30 menit, diamkan 15 menit. Tambah 5 ml kalium iodida (200 g/l), kocok dan titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 M sampai terbentuk warna kuning terang. Tambah 0,5 ml larutan kanji dan 10 ml kloroform, lanjutkan titrasi sambil dikocok. Lakukan titrasi blanko.

Setiap ml bromat-bromida 0,0167 M setara dengan 1,569 mg C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O.

#### Penyimpanan

Kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Antiseptik, pengawet antimikroba dan antipruritik.

## Fenol Cair

#### Definisi

Fenol 800 g dalam 1000 ml air.

Mengandung tidak kurang dari 77,0% b/b dan tidak lebih dari 81,5% b/b dari C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O.

**Persiapan.** Hangatkan fenol di atas penangas air sampai meleleh, tambah air suling dan campur.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Cairan tidak berwarna atau sedikit berwarna, berbau tajam.

**Kelarutan.** Larut dalam air, dapat bercampur dengan etanol (96%), eter dan gliserol.

#### Identifikasi

- A. Larutkan 0,6 g dalam 2 ml amoniak 13,5 M dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml.

Pada 2 ml larutan, tambah 0,05 ml larutan natrium hipoklorit. Terbentuk warna biru dan intensitas warnanya semakin kuat.

- B. Encerkan 1 ml larutan 15% b/v sampai volume 10 ml dan tambah 0,1 ml besi (III) klorida. Terbentuk warna violet dengan penambahan propan-2-ol.
- C. Pada 1 ml larutan 15% b/v, tambahkan 10 ml air dan 1 ml air-brom jenuh (campur 3 ml brom dengan 100 ml air, aduk selama 24 jam dan biarkan terpisah). Terbentuk warna larutan putih atau endapan putih kekuningan.

**Keasaman.** Pada 2 ml larutan 15% b/v, tambah 0,05 ml larutan metil jingga-kuning.

**Kejernihan dan warna larutan.** Larutan 1,0 ml dalam 14 ml air, pada suhu 20°C adalah jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar R<sub>7</sub> atau B<sub>7</sub>.

**Berat jenis.** 1,055—1,060 g/ml.

**Bahan tidak mudah menguap.** Panaskan di atas penangas air dan keringkan pada suhu 105°C, residu tidak lebih dari 0,05% b/v.

#### Penetapan kadar

Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air sampai batas volume 1000 ml, pindahkan 25 ml ke dalam botol 500 ml dan tambah 50 ml brom 0,05 M (Larutkan dan encerkan 2,7835 g kalium bromat dan 13 g kalium bromida dalam air sampai batas volume 1000 ml), dan 5 ml asam hidrklorida 11,5 M, sumbat, aduk selama 30 menit dan diamkan selama 15 menit. Tambah 5 ml kalium iodida 20% b/v dengan perlahan-lahan, kocok dan titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 M sampai terbentuk warna kuning terang. Tambah 0,1 ml larutan kanji dan 10 ml kloroform, lanjutkan titrasi sambil dikocok. Lakukan titrasi blanko. Setiap ml brom 0,05 M setara dengan 1,569 mg C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O.

#### Penyimpanan

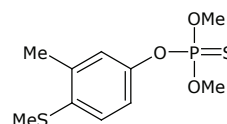
Dilindungi dari cahaya dan simpan di bawah suhu 4°C.

#### Khasiat

Antiseptik, pengawet antimikroba.

## Fention

*Fenthion*



C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>O<sub>3</sub>PS<sub>2</sub>

BM: 278,3

[55-38-1]

#### Definisi

Fention adalah O,O-dimetil O-4-metiltio-m-tolilfosforotioat.

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 100,5% dari C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>O<sub>3</sub>PS<sub>2</sub>.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Seperti minyak, coklat kekuningan.

**Kelarutan.** Tidak dapat bercampur dengan air, dapat bercampur dengan kloroform dan etanol (96%).

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah, sesuai dengan spektrum serapan standar fention.

B. Lakukan metoda kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Campur 1 volume aseton dan 4 volume heksan.

**Larutan (1).** Zat uji 0,5% b/v dalam kloroform.

**Larutan (2).** Standar fention 0,5% b/v dalam kloroform.

Totolkan secara terpisah 2 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa di bawah cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak pada kromatogram yang diperoleh larutan (1) sesuai dengan yang diperoleh larutan (2).

C. Pada 0,15 ml tambah 3 ml propan-2-ol dan 0,2 g kalium hidroksida serta panaskan di atas penangas air selama 15 menit. Tambah 5 ml air, panaskan kembali selama 5 menit, dinginkan, encerkan sampai batas volume 50 ml dengan air dan tambah 3 ml kalium iodida. Terlihat warna hijau yang secara perlahan memudar.

**Senyawa sejenis.** Lakukan metoda kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel 60 F<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 1 volume aseton dan 4 volume heksan.

**Larutan (1).** Zat uji 2,0% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Zat uji 0,12% b/v dalam metanol.

**Larutan (3).** Zat uji 0,040% b/v dalam metanol.

Totolkan secara terpisah 10 µl dari setiap larutan. Keringkan di udara dan periksa di bawah cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) mempunyai nilai R<sub>f</sub> sekitar 0,36 yang merupakan bercak utama serta tidak lebih kuat dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (6%) dan bercak kedua yang lain tidak lebih kuat dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (3) (2%).

**Penetapan kadar**

Lakukan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan (1).** Standar fention 0,4% b/v dan dibutil ftalat 0,2% b/v (standar internal) dalam kloroform.

**Larutan (2).** Zat uji 0,4% b/v dalam kloroform.

**Larutan (3).** Zat uji 0,4% b/v dan standar internal 0,2% b/v dalam kloroform.

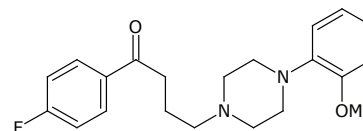
**Kolom.** Gelas berisi OV 17, mesh 80-100 mesh atau yang sesuai, 1,5 m × 4 mm, suhu 225°C.

**Khasiat**

Obat pembasmi serangga.

**Fluanison**

*Fluanisone*



C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

BM: 356,4

[1480-19-9]

**Definisi**

Fluanison adalah 4'-fluoro-4-[4-(2-metoksi fenil)piperazin-1-il]-butirofenon. Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari C<sub>21</sub>H<sub>25</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, yang dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih, tidak berbau atau hampir tidak berbau. Terlihatkan polimorfism.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air; mudah larut dalam kloroform, etanol (96%), eter dan asam organik encer.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah, sesuai dengan spektrum serapan standar fluanison. Jika spektrum tidak sesuai, larutkan 0,1 g zat uji dalam 3 ml diklorometan dan uapkan pada suhu ruang, kerok residu yang menempel pada dinding periksa kembali spektrum.

B. Serapan cahaya, pada panjang gelombang 230—350 nm larutan 0,002% b/v dalam campuran 9 volume propan-2-ol dan 1 volume asam hidroklorida 0,1 M memperlihatkan serapan maksimum pada 243 nm, dengan nilai 1,1.

C. Panaskan 0,5 ml campur kromat-asam sulfat pada tabung reaksi, dalam penangas air selama 5 menit, tambah 3 mg zat uji dan panaskan kembali.

**Suhu lebur.** 72°—76°C.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metoda kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel 60 GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 10 volume etanol (96%) dan 90 volume kloroform.

**Larutan (1).** Zat uji 2,0% b/v dalam kloroform.

**Larutan (2).** Zat uji 0,010% b/v dalam kloroform.

**Larutan (3).** Standar 4'-fluoro-4-klorobutirofenon 0,020% b/v dalam kloroform.

**Larutan (4).** Standar 1-(2-metoksifenil)piperazin 0,010% b/v dalam kloroform.

Totolkan secara terpisah 10 µl dari setiap larutan.

Angkat lempeng dan keringkan di udara. Paparkan pada uap iodium selama 15 menit. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan 4'-fluoro-4-klorobutirofenon dan 1-(2-metoksifenil)piperazin, tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (3) dan (4) (1% dan 0,5%). Bercak kedua yang lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (0,5%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 40°C tekanan tidak melebihi 0,7 kPa. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode titrasi bebas air, menggunakan 0,15 g dan kristal violet sebagai indikator. Setiap ml asam perklorat 0,1M setara dengan 17,82 mg  $C_{16}H_{12}FN_3O_3$ .

#### Penyimpanan

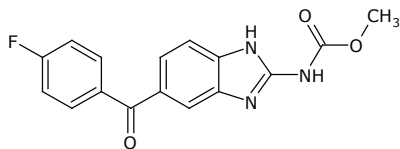
Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Transkuiliser.

## Flubendazol

*Flubendazole*



$C_{16}H_{12}FN_3O_3$

BM: 313,3

[31430-15-6]

#### Definisi

Flubendazol adalah metil [5-(4-fluorobenzoyl)-1H-benzimidazol-2-il]karbamat. Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, alkohol dan metilen klorida. Memperlihatkan polimorfism.

#### Identifikasi

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar flubendazol tanpa rekristalisasi.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 0,1 g zat uji dalam dimetilformamid sampai volume 100,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 5 mg flubendazol untuk kesesuaian sistem dalam dimetilformamid sampai batas volume 5,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji sampai batas volume 100,0 ml dalam dimetilformamid. Encerkan 5,0 ml dengan dimetilformamid sampai volume 20,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil tidak aktif 3  $\mu$ m, 0,10 m x 4,6 mm, atau yang sesuai. Suhu 40°C.

**Fase gerak A.** Amonium asetat (7,5 g/l).

**Fase gerak B.** Asetonitril.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0—15	90 → 75	10 → 25
15—30	75 → 45	25 → 55
30—32	45 → 10	55 → 90
32—37	10	90
37—38	10 → 90	90 → 10
38—42	90	10

**Laju alir.** 1,2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 250 nm.

**Injek.** 10  $\mu$ l.

#### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (a).** Kromatogram yang diperoleh sesuai dengan kromatogram standar flubendazol untuk kesesuaian sistem.

#### Batas

**Faktor koreksi.** untuk menghitung kadar, kalikan area puncak dari ketidakmurnian berikut oleh faktor-koreksi ketidakmurnian A 1,4, ketidakmurnian C 1,3, ketidakmurnian D 1,3, ketidakmurnian G 1,4.

**Ketidakmurnian A, B, C, D, E, G.** Untuk setiap ketidakmurnian, tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,25%).

**Ketidakmurnian F.** Tidak lebih dari dua kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

**Ketidakmurnian lain.** Dengan waktu tambat relatif antara 1,2 dan 1,3 tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,25%).

**Total.** Tidak lebih dari 6 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,5%).

**Abaikan batas.** 0,2 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih 0,1%, gunakan 1,0 g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,250 g dalam 3 ml asam format anhidrat, tambah 50 ml campuran 1 volume asam asetat anhidrid dan 7 volume etil metil keton. Titrasi

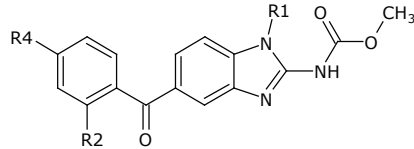


dengan asam perklorat 0,1M, tentukan titik-akhir secara potensiometrik. Setiap ml 0,1 M asam perklorat setara dengan 31,33 mg  $C_{16}H_{12}FN_3O_3$ .

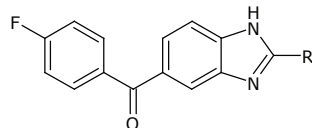
### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Ketidakmurnian



- A.  $R_1 = R_2 = H, R_4 = NH-CHO$ : Metil [5-[4-(formil amino)benzoi]-1H-benzimidazol-2-il]karbamat.
- E.  $R_1 = R_4 = H, R_2 = F$ : Metil [5-(2-fluorobenzoil)-1H-benzimidazol-2-il]karbamat.
- F.  $R_1 = CH_3, R_2 = H, R_4 = F$ : Metil [5-(4-fluorobenzoil)-1-metil-1H-benzimidazol-2-il]karbamat.
- G.  $R_1 = R_2 = H, R_4 = O-CH(CH_3)_2$ : Metil [5-[4-(1-metil-etoksi)benzoil]-1H-benzimidazol-2-il]karbamat.



- B.  $R = NH_2$ : (2-amino-1H-benzimidazol-5-il)(4-fluorofenil)metanon.
- C.  $R = OH$ : (4- fluorofenil)(2-hidroksi-1H-benzimidazol-5-il)metanon.
- D.  $R = H$ : (1H-benzimidazol-5-il)(4-fluorofenil)metanon.

### Khasiat

Obat cacing.

## Flubendazol Suspensi Oral

### Definisi

Flubendazol suspensi oral adalah suspensi flubendazol dalam pembawa yang sesuai.

Suspensi oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan cair oral dan persyaratan berikut.

Mengandung flubendazol tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Pada uji senyawa sejenis pada flubendazol, waktu tambat sediaan flubendazol sama dengan waktu tambat standar flubendazol

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dalam flubendazol.

### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dalam flubendazol menggunakan larutan uji 0,250 g.

### Penyimpanan

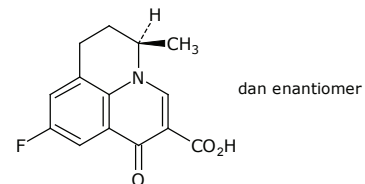
Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Flumekuin

*Flumequine*



$C_{14}H_{12}FNO_3$

BM: 261,3

[42835-25-6]

### Definisi

Flumekuin mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari (RS)-9-fluoro-5-metil-1-okso-6,7-dihidro-1H,5H-benzo[i,j]asam kuinolizin-2-karboksilat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk mikrokristal putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam larutan alkali hidroksida pekat, agak sukar larut dalam metilen klorida, sangat sukar larut dalam metanol.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: B, C, D.

A. Spektrum serapan inframerah sama dengan spektrum serapan standar flumekuin.

B. Memenuhi uji rotasi jenis (lihat uji rotasi jenis).

C. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel  $F_{254}$  atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan 5 mg zat uji dalam 10 ml metilen klorida.

**Larutan standar.** Larutkan 5 mg standar flumekuin dalam 10 ml metilen klorida.

**Fase gerak.** Campur 10 volume amoniak, 10 volume air dan 90 volume alkohol.

Totolkan 5  $\mu$ l pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa pada cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai tempat dan ukuran bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar.

D. Campurkan 5 mg dengan 45 mg magnesium oksida dan pijarkan dalam cawan porselen sampai

terbentuk residu hampir putih (biasanya kurang dari 5 menit). Dinginkan, tambah 1 ml air, 0,05 ml larutan fenolftalein dan 2 ml asam hidroklorida encer sampai larutan tidak berwarna. Saring dan tambah hasil saringan dengan campuran 0,1 ml larutan alizarin S dan 0,1 ml larutan zirkonil nitrat. Aduk, diamkan selama 5 menit dan bandingkan warna larutan uji dengan larutan blanko. Terbentuk warna larutan uji merah menjadi kuning, warna larutan blanko merah.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 5,0 g dalam natrium hidroksida 0,5 M sampai batas volume 50,0 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar BY<sub>5</sub>.

**Rotasi jenis.** Larutan S adalah -0,10° sampai +0,10°.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 35,0 mg zat uji dalam dimetilformamid sampai volume 100,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 5,0 mg standar flumekuin dan 5,0 mg standar flumekuin ketidakh murnian B dalam dimetilformamid sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan dimetilformamid sampai batas volume 200,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5 µm, ukuran 0,15 m x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Laju alir.** 0,8 ml/menit.

**Fase gerak.** Campur 49 volume metanol dan 51 volume kalium dihidrogen fosfat (1,36 g/l).

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 313 nm.

**Injek.** 10 µl larutan.

Injek larutan standar (a). Waktu tambat ketidakh murnian B sekitar 11 menit dan flumekuin sekitar 13 menit. Uji tidak absah kecuali jika, resolusi antara puncak flumekuin dan ketidakh murnian B sedikitnya 2,0.

Injek secara terpisah dimetilformamid sebagai blanko, larutan uji dan larutan standar (b). Lanjutkan kromatografi larutan uji untuk tiga kali waktu tambat flumekuin. Waktu tambat relatif ketidakh murnian A sekitar 0,67 dengan puncak flumekuin. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, area puncak lain, selain dari puncak utama, tidak lebih besar dari area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%), jumlah area semua puncak, selain dari puncak utama, tidak lebih besar dua kali lebih area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1%). Abaikan puncak lain yang diperoleh dengan dimetilformamid dan puncak lain dengan area kurang dari 0,1 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b).

**Logam berat.** 2,0 g memenuhi uji batas C untuk logam berat (10 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

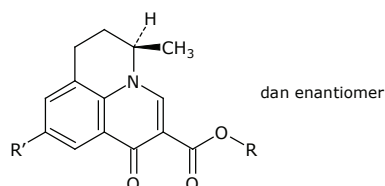
**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

### Penetapan kadar

Larutkan 0,5 g dalam 50 ml dimetilformamid. Titrasi dengan tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M, tentukan titik akhir secara potensiometrik.

Setiap ml tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M setara dengan 26,13 mg C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>FNO<sub>3</sub>.

### Ketidakh murnian



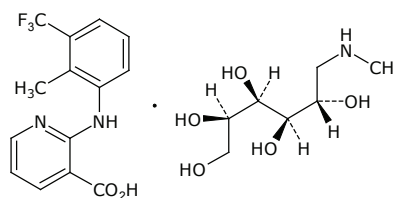
- R = R' = H: Asam (RS)-5-metil-1-okso-6,7-dihidro-1H,5H-benzo[i,j]kuinolizina-2-karboksilat (defluoroflumekuin).
- R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, R' = F: Etil (RS)-9-fluoro-5-metil-1-okso-6,7-dihidro-1H,5H-benzo[i,j]kuinolizina-2-karboksilat (flumekuin etil ester).

### Khasiat

Antimikroba.

## Fluniksín Meglumin

*Flunixin Meglumine*



C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>

BM: 491,5

[42461-84-7]

### Definisi

Fluniksín meglumin adalah 2-[[2-metil-3-(trifluorometil)fenil]amino] piridin-3-asam karboksilat, 1-deoksi-1-(metilamino)-d-glukitol.

Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% yang dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air dan metanol, praktis tidak larut dalam aseton.

### Identifikasi

- Rotasi jenis spesifik antara -9,0° sampai -12,0° dihitung dengan standar terhadap zat kering dengan larutan S.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar fluniksín meglumin.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,50 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 50,0 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar Y<sub>7</sub>.

**Kebasaan.** pH larutan S 7,0—9,0.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 5,0 mg standar ketidakhurnian fluniksina B dalam 1,0 ml larutan uji dan encerkan dengan fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 5,0 mg asam 2-kloronikotinat (ketidakhurnian A) dengan fase gerak sampai batas volume 50,0 ml. Pada 2,0 ml larutan tambah 2,0 ml larutan standar (a) dan encerkan dengan fase gerak sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 50 mg standar ketidakhurnian fluniksina C dengan fase gerak sampai batas volume 100 ml.

**Kolom.** Silika oktadesilsilil 5 µm, ukuran: 0,125 m x 4,0 mm, atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 300 volume air, 700 volume asetonitril, dan 0,25 volume asam fosfat.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek.** 10 µl.

**Waktu uji.** 5 kali waktu tambat fluniksina.

Waktu tambat relatif fluniksina (sekitar 3,1 menit), ketidakhurnian A sekitar 0,4, ketidakhurnian C sekitar 0,6, ketidakhurnian B sekitar 0,7, ketidakhurnian D sekitar 4,2.

#### Kesesuaian sistem

**Standar larutan (a).** Resolusi minimum 3,5 antara puncak ketidakhurnian B dan fluniksina.

#### Batas

**Faktor-koreksi.** Untuk perhitungan kadar, kalikan area puncak ketidakhurnian C oleh 1,9.

**Ketidakhurnian A.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,2%).

**Ketidakhurnian B.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,2%).

**Ketidakhurnian C, D.** Untuk setiap ketidakhurnian, tidak lebih dari area puncak fluniksina pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,2%).

**Ketidakhurnian lain.** Tidak lebih dari area puncak fluniksina pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,2%).

**Total.** Tidak lebih dari 2,5 kali area puncak fluniksina pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan

standar (b) (0,5%).

**Abaikan batas.** 0,25 kali area puncak fluniksina pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

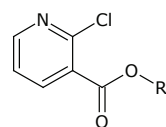
**Abu sulfat.** Tidak lebih 0,1%, gunakan 1,0 g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,175 g dalam 50 ml asam asetat glasial. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M, tentukan titik-akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 24,57 mg C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>.

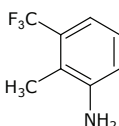
#### Ketidakhurnian

Menetapkan ketidakhurnian A, B, C, D.

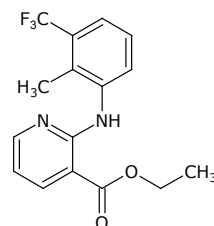


A. R = H: Asam 2-kloropiridina-3-karboksilat.

C. R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>: Etil 2-kloropiridina-3-karboksilat.



B. 2-metil-3-(trifluorometil)anilin.



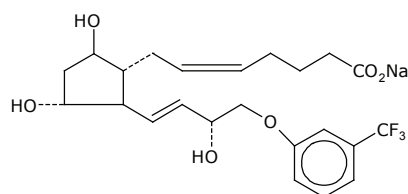
D. Etil 2-[[2-metil-3-(trifluorometil)fenil]amino]piridina-3-karboksilat.

#### Khasiat

Obat penghilang rasa sakit, anti radang.

## Fluprostenol Natrium

*Fluprostenol Sodium*



C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>F<sub>3</sub>NaO<sub>6</sub>

BM: 480,5

[55028-71-2]

#### Definisi

Mengandung fluprostenol natrium tidak kurang dari 98% dan tidak lebih dari 102%, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk higroskopik, putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Sangat larut dalam air, alkohol dan metanol.

**Identifikasi**

- A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar fluprostenol natrium
- B. Periksa kromatogram yang diperoleh pada penetapan kadar, waktu tambat larutan uji sama dengan waktu tambat larutan standar.
- C. Memberikan reaksi natrium.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Zat uji 2,0% b/v dalam etanol absolut.

**Larutan (2).** Zat uji 0,050% b/v dalam etanol absolut.

**Kolom.** Partisil 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 25 cm  $\times$  4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 1 volume asam asetat glasial, 70 volume etanol absolut dan 930 volume heksan.

**Laju alir.** 1,8 ml/ml.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 220 nm.

**Injek.** 5  $\mu\text{l}$  dari setiap larutan. Gunakan larutan (2), atur atenuasi untuk puncak utama sampai tidak kurang dari 50% skala penuh.

**Waktu uji.** 2 kali waktu tambat fluprostenol.

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1), jumlah area puncak kedua tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (2,5%).

**Air.** Tidak lebih dari 3,0%, Gunakan 50 mg dalam 1 ml etanol absolut.

**Penetapan kadar**

Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti pada uji senyawa sejenis menggunakan:

**Larutan uji.** Zat uji 0,08% b/v dalam etanol absolut.

**Larutan standar.** Standar fluprostenol natrium 0,08% b/v dalam etanol absolut.

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup rapat.

**Khasiat**

Prostanoid luteolitik.

**Fluprostenol Natrium Injeksi****Definisi**

Fluprostenol natrium injeksi adalah suspensi steril fluprostenol natrium dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

Pada penetapan kadar, kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) memberikan waktu tambat yang sama dengan standar fluprostenol dalam larutan (1).

**Penetapan kadar**

Lakukan penetapan seperti tertera pada injeksi kloprostenol natrium dengan standar fluprostenol natrium (1) dan larutan sediaan injeksi (2).

**Penyimpanan**

Dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Formalin***Formaldehyde Solution*

$\text{CH}_2\text{O}$

BM: 30,03

[50-00-0]

**Definisi**

Formalin (35%) mengandung tidak kurang dari 34,5% b/b dan tidak lebih dari 38,0% b/b formaldehid ( $\text{CH}_2\text{O}$ : BM 30,03) dengan metanol sebagai stabiliser.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Cairan jernih, tidak berwarna, dapat bercampur dengan air dan alkohol. Mungkin saja keruh setelah disimpan.

**Identifikasi**

- A. Encerkan 1 ml larutan S dengan air sampai volume 10 ml. Pada 0,05 ml larutan tambah 1 ml asam kromotropat natrium (15 g/l), 2 ml air dan 8 ml asam sulfat. Dalam waktu 5 menit terbentuk warna ungu-biru atau ungu-merah.
- B. Pada 0,1 ml larutan S tambah 10 ml air. Tambah 2 ml larutan segar fenilhidrazin hidroklorida (10 g/l), 1 ml kalium besi-sianida dan 5 ml asam hidroklorida. Terbentuk warna merah kuat.
- C. Campur 0,5 ml dengan 2 ml air dan 2 ml larutan perak nitrat dalam tabung. Tambah amoniak encer sampai sedikit alkali. Panaskan di atas tangas air. Terbentuk endapan berwarna abu-abu.
- D. Memenuhi uji batas logam.

**Larutan S.** Encerkan 10 ml dengan air bebas karbon dioksida sampai batas volume 50 ml dan saring.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih tidak berwarna.

**Keasaman.** Pada 10 ml larutan S tambah 1 ml larutan fenolftalein. Tidak lebih dari 0,4 ml natrum hidroksida 0,1 M diperlukan untuk mengubah indikator menjadi merah.

**Metanol.** 9,0—15,0% v/v.

Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan standar internal.** Encerkan 10 ml etanol dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Larutan uji.** Pada 10,0 ml larutan uji, tambah 10,0 ml larutan standar internal dan encerkan dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar.** Pada 1,0 ml metanol tambah 10,0 ml larutan standar internal dan encerkan dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Gelas ko-polimer etilvinilbenzen-divinilbenzen ukuran (150  $\mu\text{m}$ —180  $\mu\text{m}$ ) (15 cm—20 cm) x (2 mm—4 mm). Suhu kolom dan injektor 120°C dan detektor 150°C.

**Gas pembawa.** Nitrogen.

**Laju alir.** 30—40 ml/menit.

**Detektor.** Flame-ionization detector (FID), detektor ionisasi nyala.

**Injek.** 1  $\mu\text{l}$  larutan standar. Lakukan penyesuaian sensitivitas sehingga puncak pada kromatogram yang diperoleh adalah sedikitnya 50% dari skala-penuh.

Uji tidak absah kecuali jika resolusi antara puncak metanol dan etanol adalah 2,0.

Injek secara terpisah 1  $\mu\text{l}$  larutan uji dan 1  $\mu\text{l}$  larutan standar. Hitung prosentase kadar metanol.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%,gunakan 1 g.

#### Penetapan kadar

Pada labu-100 ml yang mengandung 2,5 ml air dan 1 ml dari natrium hidroksida encer, tambah 1,0g larutan uji, aduk dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml. Pada 10,0 ml larutan tambah 30,0 ml iodium 0,05M. Aduk dan tambah 10 ml natrium hidroksida encer. Setelah 15 menit, tambah 25 ml asam sulfat encer dan 2 ml larutan kanji. Titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 M. Setiap ml iodium 0,05 M setara dengan 1,501 mg  $\text{CH}_2\text{O}$ .

#### Penyimpanan

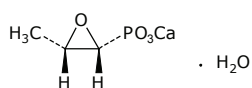
Lindungi dari cahaya dan suhu 15°—25°C.

#### Khasiat

Desinfektan.

## Fosfomisin Kalsium

*Fosfomycin Calcium*



$\text{C}_3\text{H}_5\text{CaO}_4\text{P}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$

BM: 194,1

[26016-98-8]

#### Definisi

Fosfomisin kalsium mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari kalsium

(2R,3S)-(3-metiloksiran-2-il)fosfonat, yang dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Sukar larut dalam air, praktis tidak larut dalam aseton, metanol dan metilen klorida.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, D.

Identifikasi kedua: B, C, D.

A. Spektrum serapan inframerah harus sesuai dengan spektrum serapan standar kalsium fosfomisin. Periksa zat uji yang dipersiapkan pada cakram menggunakan kalium bromida.

B. Larutkan 0,1 g dalam 3 ml asam perklorat 25% v/v. Tambah 1 ml natrium periodat 0,1M dan panaskan di atas penangas air selama 30 menit. Diamkan sampai dingin, tambah 50 ml air. Netralkan dengan larutan natrium hidrogen karbonat jenuh dan tambahkan 1 ml larutan segar kalium iodida (400 g/l). Lakukan titrasi blanko. Larutan uji tidak berwarna dan blanko berwarna orange.

C. Pada 8 mg zat uji, tambah 2 ml air, 1 ml asam perklorat dan 2 ml natrium periodat 0,1M. Panaskan di atas penangas air selama 10 menit dan tambah 1 ml amonium molibdat dan 1 ml asam aminohidroksi-naftalenesulfonat. Biarkan selama 30 menit. Terbentuk warna biru.

D. Memberikan reaksi dari kalsium.

**pH.** Larutkan dan encerkan 20 mg dengan air bebas karbon dioksida sampai batas volume 20,0 ml. pH 8,1—9,6.

**Rotasi jenis.** Larutkan 2,5 g dalam natrium edetat (125 g/l, pH 8,5) dan encerkan sampai batas volume 50,0 ml. Ukur serapan pada panjang gelombang 405 nm, rotasi jenis adalah  $-11,0^\circ$  sampai  $-13,0^\circ$ , dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

**Kalsium 1,2-(dihidroksipropil)fosfonat.** Tidak lebih dari 1,5%. Larutkan 0,2 g zat uji dengan air sampai batas volume 100,0 ml. Tambah 50 ml dapar ftalat 0,5 M pH 6,4 dan 5,0 ml natrium periodat 0,005 M, sumbat dan aduk. Biarkan dan lindungi dari cahaya selama 90 menit. Tambah 10 ml larutan segar kalium iodida (400 g/l), sumbat dan aduk selama 2 menit. Titrasi dengan natrium arsenit 0,0025 M sampai warna kuning hampir hilang. Tambah 2 ml kanji dan titrasi kembali secara perlahan-lahan sampai warna berubah. Lakukan titrasi blanko. Hitung konsentrasi (%)  $\text{C}_3\text{H}_7\text{CaO}_5\text{P}$  dengan rumus:

$$\frac{(n_1 - n_2) \times c \times 97}{m (100 - H)} \times 100$$

Keterangan:

m = jumlah zat uji, dalam mg,

$n_1$  = volume natrium arsenit 0,0025 M untuk larutan blanko,

$n_2$  = volume natrium arsenit 0,0025 M untuk larutan uji,

$c$  = molaritas larutan natrium arsenit,

$H$  = % air

**Klorida.** Larutkan 0,500 g dalam air, tambah 2 ml asam nitrat dan encerkan sampai batas volume 50 ml. Pada 2,5 ml larutan, tambah 12,5 ml air. Larutan memenuhi uji batas untuk klorida (0,2%).

**Logam berat.** Larutkan 2,5 g zat uji dalam 6 ml asam asetat glasial, encerkan dengan air sampai batas volume 25,0 ml. Pada 12 ml larutan memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Siapkan standar menggunakan standar Pb (2 ppm Pb).

**Air.** 8,5%—11,5%, ditentukan dari 0,250 g dengan metode semi-mikro untuk air. Gunakan pelarut campuran 1 volume piridin dan 3 volume etilen glikol.

### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah metode berikut:

- Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
- Masukan ke dalam labu bersumbat dan larutkan 0,120 g zat uji 20,0 ml natrium periodat 0,1 M. Tambah 5 ml asam perklorat 50% v/v dan aduk. Panaskan diatas penangas air pada suhu 37°C selama 105 menit. Tambah 50 ml air dan segera atur pH 6,4 dengan larutan natrium hidrogen karbonat. Tambah 10 ml larutan segar kalium iodid (400 g/l), sumbat dan biarkan selama 2 menit. Titrasi dengan natrium arsenit 0,1 M sampai warna kuning hampir menghilang. Tambah 2 ml larutan kanji dan titrasi kembali secara perlahan-lahan sampai warna berubah. Lakukan titrasi blanko. Hitung (%)  $C_3H_5CaO_4P_2H_2O$  dengan rumus:

$$\frac{(n_1 - n_2) \times c \times 88 \times 100}{m(100 - H)} \times 100 - G$$

Keterangan:

$m$  = jumlah zat uji, dalam mg,

$n_1$  = volume 0,1 M natrium arsenit untuk blanko,

$n_2$  = volume 0,1 M natrium arsenit untuk larutan uji,

$c$  = molaritas larutan natrium arsenit,

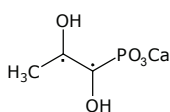
$G$  = % kalsium 1,2-(dihidroksipropil) fosfonat,

$H$  = % air.

### Penyimpanan

Kedap udara, dilindungi dari cahaya.

### Ketidakhurnian



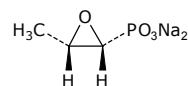
Kalsium (1,2-dihidroksipropil)fosfonat.

### Khasiat

Antibiotik

## Fosfomisin Natrium

*Fosfomycin Sodium*



$C_3H_5Na_2O_4P$

BM: 182,0

[23519-26-8]

### Definisi

Fosfomisin natrium mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari dinatrium (2R,3S)-(3-metiloksiran-2-il)fosfonat, dihitung dengan standar terhadap dari zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih, sangat higroskopik.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam metanol, praktis tidak larut dalam etanol dan metilen klorida.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, D.

Identifikasi kedua: B, C, D.

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar fosfomisin natrium.
- Larutkan 0,1 g dalam 3 ml larutan asam perklorat 25% v/v. Tambah 1 ml natrium periodat 0,1 M dan panaskan di atas penangas air selama 30 menit. Biarkan sampai dingin dan tambah 50 ml air. Netralkan dengan larutan natrium hidrogen karbonat jenuh dan tambah 1 ml larutan segar kalium iodida (400 g/l). Lakukan titrasi blanko. Larutan uji tetap tidak berwarna sedangkan blanko berwarna orange.
- Pada 8 mg zat uji, tambah 2 ml air, 1 ml asam perklorat dan 2 ml natrium periodat 0,1 M. Panaskan di atas penangas air selama 10 menit, tambah 1 ml amonium molibdat dan 1 ml asam aminohidroksi naftalensulfonat. Biarkan selama 30 menit. Terbentuk warna biru.
- Memberikan reaksi natrium.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 5,0 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 50,0 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibanding dengan larutan standar.

**pH.** Encerkan 10 ml larutan S sampai 20 ml dengan air bebas karbon dioksida. pH 9,0—10,5.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air sampai batas volume 50,0 ml. Periksa pada panjang gelombang 405 nm. Rotasi jenis adalah  $-13,0^\circ$  sampai  $-15,0^\circ$ , yang dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

**Dinatrium 1,2 - (dihidroksipropil) fosfonat.** Tidak lebih dari 1,0%. Larutkan 0,2 g zat uji dalam air sampai batas volume 100,0 ml. Tambah 50 ml dapar ftalat 0,5 M pH 6,4 dan 5,0 ml natrium periodat 0,005 M, sumbat dan aduk. Biarkan dan lindungi dari cahaya selama 90

menit. Tambah 10 ml larutan segar kalium iodida (400 g/l), sumbat dan aduk selama 2 menit. Titrasi dengan natrium arsenit 0,0025 M sampai warna kuning hampir menghilang. Tambah 2 ml larutan kanji dan titrasi kembali secara pelan-pelan sampai warna hilang. Lakukan titrasi blanko. Hitung prosentase kadar  $C_3H_7Na_2O_5P$  dengan rumus:

$$\frac{(n_1 - n_2) \times c \times 100}{m (100 - H)} \times 100$$

Keterangan:

m = jumlah zat uji, dalam mg,

$n_1$  = volume natrium arsenit 0,0025 M untuk titrasi blanko,

$n_2$  = volume natrium arsenit 0,0025 M untuk titrasi uji,

c = molaritas larutan natrium arsenit,

H = % isi air

**Logam berat.** Jumlah larutan 12 ml memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Siapkan standar menggunakan standar Pb (2 ppm).

**Air.** Tidak lebih dari 1,0%, ditentukan dari 0,50 g dengan metode semi-mikro untuk air. Gunakan pelarut campuran 1 volume piridin dan 3 volume etilen glikol.

**Endotoksin bakteri.** Kurang dari 0,083 IU/mg, jika digunakan untuk parenteral.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan kadar/potensi dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Masukkan ke dalam labu bersumbat dan larutkan 0,12 g zat uji dalam 20,0 ml natrium periodat 0,1 M. Tambah 5 ml asam perklorat 50%v/v dan aduk. Panaskan di atas penangas air suhu 37°C selama 105 menit. Tambah 50 ml air dan segera atur pH 6,4 dengan larutan natrium hidrogen karbonat. Tambah 10 ml larutan segar kalium iodida (400 g/l), sumbat dan biarkan selama 2 menit. Titrasi dengan natrium arsenit 0,1 M sampai warna kuning hampir menghilang. Tambah 2 ml larutan kanji dan titrasi kembali secara pelan-pelan sampai warna hilang. Lakukan titrasi blanko. Hitung prosentase kadar  $C_3H_5Na_2O_4P$  dengan rumus:

$$\frac{(n_1 - n_2) \times c \times 91 \times 100}{m (100 - H)} \times 100 - G$$

Keterangan:

m = jumlah zat uji, dalam mg,

$n_1$  = volume natrium arsenit 0,1 M untuk titrasi blanko,

$n_2$  = volume natrium arsenit 0,1 M untuk titrasi larutan uji,

c = molaritas larutan natrium arsenit,

G = % isi dinatrium 1,2-(dihidroksi propil) fosfonat,

H = % isi air.

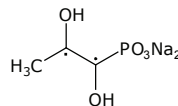
#### Penyimpanan

Kedap udara, dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus dinyatakan bebas dari endotoksin bakteri.

#### Ketidakmurnian



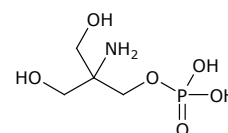
Dinatrium (1,2-dihidroksi propil)fosfonat.

#### Khasiat

Antibiotik.

## Fosfomisin Trometamol

*Fosfomycin Trometamol*



$C_7H_{18}NO_7P$

BM: 259,2

[78964-85-9]

#### Definisi

Fosfomisin trometamol adalah 2-amino-2-(hidroksi-metil)hidrogen propan-1,3-diol (2R,3S)-(3-metil-oksiran-2-il)fosfonat.

Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih dan higroskopik.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air, sukar larut dalam etanol (96%) dan metanol, praktis tidak larut dalam aseton.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A.

Identifikasi kedua: B, C.

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar fosfomisin trometamol.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50 mg zat uji dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 50 mg standar fosfomisin trometamol dengan air sampai volume 10 ml.

**Lempeng.** Selulosa.

**Fase gerak.** Campuran amoniak pekat, air dan 2-propanol (10:20:70 v/v/v).

**Totolkan.** 10  $\mu$ l.

Keringkan di udara hangat. Paparkan pada uap iodium sampai bercak nampak. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji adalah sama pada tempat, warna dan ukuran dari bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar.

- C. Pada 15 mg, tambah 2 ml air, 1 ml asam perklorat dan 2 ml natrium periodat 0,1M. Panaskan di atas penangas air selama 10 menit, tambah 1 ml amonium molibdat dan 1 ml asam aminohidroksi naftalenesulfonat. Biarkan selama 30 menit, terbentuk warna biru.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dengan air bebas karbon dioksida sampai volume 20,0 ml.

**pH.** 3,5 – 5,5 untuk larutan S.

**Rotasi jenis.**  $-13,5^\circ$  sampai  $-12,5^\circ$  dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat, ditentukan dari larutan S pada panjang gelombang 365 nm.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,6 g zat uji dalam fase gerak sampai volume 5,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 0,600 g standar fosfomisin trometamol dengan fase gerak sampai volume 5,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji sampai batas volume 100,0 ml dengan fase gerak. Ambil 3,0 ml dan encerkan dengan fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (c).** Basahi 0,3 g zat uji dengan 60  $\mu$ l air dan panaskan pada suhu  $60^\circ\text{C}$  selama 24 jam. Larutkan dan encerkan residu dengan fase gerak sampai 20,0 ml (larutan A). Larutkan dan encerkan 0,6 g zat uji dalam larutan A sampai 5,0 ml (akan terjadi degradasi untuk diperoleh ketidakhurnian A, B, C dan D).

**Larutan blanko.** Fase gerak.

**Kolom.** Silika aminopropilsilil, 5  $\mu\text{m}$ , 0,25 m x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Kalium dihidrogen (fosfat 10,89 g/l) dalam air.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Diferensial refraktometer pada suhu  $35^\circ\text{C}$ .

**Injek.** 10  $\mu$ l larutan blanko, larutan uji, larutan standar (b) dan (c).

Waktu uji adalah dua kali dari waktu tambat fosfomisin. Waktu tambat relatif fosfomisin sekitar 9 menit; trometamol (2 puncak) sekitar 0,3, ketidakhurnian B sekitar 0,48, ketidakhurnian C sekitar 0,54, ketidakhurnian A sekitar 0,88, ketidakhurnian D sekitar 1,27.

#### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (c).** Resolusi minimum 1,5 antara puncak ketidakhurnian A dan fosfomisin, rasio perbandingan puncak dan dasar minimum 1,5 dimana:

$H_p$  = ketinggian di atas garis dasar dari puncak dengan ketidakhurnian C.

$H_v$  = ketinggian di atas garis dasar dari titik paling rendah dari kurva pemisahan puncak dari ketidakhurnian B.

#### Batas

**Ketidakhurnian A, B.** Tidak lebih dari area puncak fosfomisin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,3%).

**Ketidakhurnian C, D.** Tidak lebih dari 0,33 kali area puncak fosfomisin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,1%).

Ketidakhurnian yang tidak spesifik tidak lebih dari 0,33 kali area puncak fosfomisin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,1%).

**Total.** Tidak lebih dari 1,67 kali area puncak fosfomisin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%);

**Abaikan batas.** 0,17 kali area puncak fosfomisin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%), abaikan 2 puncak trometamol dan puncak blanko.

**Fosfat.** Tidak lebih dari 500 ppm. Larutkan 0,1 g dalam 3 ml asam nitrat encer dan encerkan dengan air sampai 10 ml. Pada 5 ml larutan ini tambah 5 ml air dan 5 ml molibdovanadat. Kocok dengan kuat, setelah 5 menit, warna dalam larutan uji tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan standar menggunakan 5 ml fosfat (5 ppm  $\text{PO}_4$ ).

**Logam berat.** Tidak lebih dari 10 ppm. Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air sampai 20 ml. Pada 12 ml larutan, memenuhi uji batas. Siapkan larutan standar menggunakan standar timbal (1 ppm Pb).

**Air.** Tidak lebih dari 0,5%, gunakan 0,5 g.

#### Penetapan potensi/kadar

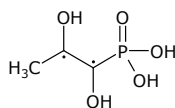
Lakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
- Lakukan kromatografi cair seperti yang tertera pada senyawa sejenis dengan modifikasi berikut. Injek 5  $\mu$ l larutan uji dan larutan standar (a). Hitung kadar  $\text{C}_7\text{H}_{18}\text{NO}_7\text{P}$  dari area puncak fosfomisin dan standar fosfomisin trometamol.

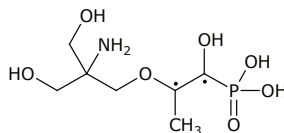
#### Penyimpanan

Kedap udara.

#### Ketidakhurnian

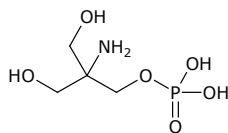


- A. (1,2-dihidroksipropil) asam fosfonat.

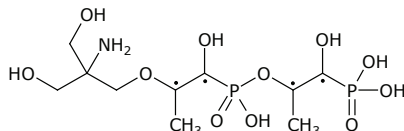


- B. Asam [2-[2-amino-3-hidroksi-2-(hidroksimetil)propoksi]-1-hidroksipropil]fosfonat.





- C. 2-amino-3-hidroksi-2-(hidroksimetil)propildi-hidrogenfosfat (trometamol asam fosfat monoester).



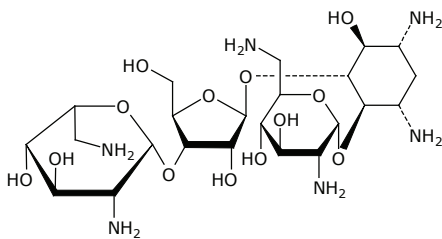
- D. Asam [2-[[[2-[2-amino-3-hidroksi-2-(hidroksimetil)propoksi]-1-hidroksipropil]hidroksifosforil]oksi]-1-hidroksipropil] fosfonat (trometa moiloksi fosfomisin dimer).

### Khasiat

Antibiotik.

## Framisetin Sulfat

*Framycetin Sulphate*



$C_{23}H_{46}N_6O_{13} \cdot xH_2SO_4$

BM: 615

[4146-30-9]

### Definisi

Framisetin sulfat adalah sulfat dari 2-deoksi-4-O-(2,6-diamino-2,6-dideoksi- $\alpha$ -D-glukopiranosil)-5-O-[3-O-(2,6-diamino-2,6-dideoksi- $\beta$ -D-idopiranosil)- $\beta$ -D-ribofuranosil]-D-streptomisin (neomisin B). Diproduksi dari hasil seleksi *Streptomyces fradiae* terpilih atau *Streptomyces decaris* atau diperoleh dengan cara-cara lain.

Mengandung tidak kurang dari 630 IU/mg dihitung dengan standar terhadap zat kering

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih kekuningan, higroskopik.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, sangat sukar larut dalam alkohol, praktis tidak larut dalam aseton.

### Identifikasi

A. Pemeriksaan kromatogram dari zat uji menunjukkan waktu tambat yang sama dengan waktu tambat larutan standar (a), dan memenuhi batas ketidakh murnian C.

B. Memberikan reaksi dari sulfat

**pH.** 6,0—7,0. Larutkan dan encerkan 0,1 g dengan air bebas karbon dioksida sampai volume 10 ml.

**Rotasi jenis.** +52,5° sampai +55,5° (zat kering). Larutkan dan encerkan 1,0 g dengan air sampai volume 10,0 ml.

**Senyawa sejenis.** Lakukan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25,0 mg zat uji dengan fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan standar framisetin sulfat dengan fase gerak sampai konsentrasi 0,5 mg/ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 3,0 ml larutan standar (a) dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan dan encerkan standar neamin konsentrasi 0,5 mg dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (e).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar neomisin sulfat dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil deaktivasi, 5  $\mu$ m, 0,25 m x 4,6 mm, atau yang sesuai. Suhu 25°C.

**Fase gerak.** Campur 20,0 ml asam trifluoroasetat, 6,0 ml natrium hidroksida bebas karbonat dan 500 ml air, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Laju alir.** 0,7 ml/menit.

**Larutan post column.** Larutan natrium hidroksida encer (1 dalam 25) degas, alirkan 375  $\mu$ l ke kumparan polimerik, laju alir 0,5 ml/menit.

**Detektor.** Amperometrik dengan elektroda emas dan elektroda standar perak klorida serta elektroda baja, biarkan pada deteksi oksidasi 0,00 V sampai +0,80 V dan reduksi potensial pada -0,60 V.

**Injeksi.** 10  $\mu$ l.

**Waktu uji.** 1,5 kali waktu tambat neomisin B.

**Waktu tambat relatif.** Neomisin B sekitar 10 menit, ketidakh murnian A sekitar 0,65; ketidakh murnian C sekitar 0,9; ketidakh murnian G sekitar 1,1.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi minimum 2,0 antara puncak ketidakh murnian C dan neomisin B pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e), lakukan penyesuaian volume natrium hidroksida bebas karbonat dalam fase gerak, perbandingan signal terhadap noise minimum 10 untuk puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c).

**Batas.** Ketidakh murnian A tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (d) yang dinyatakan standar neamin (1,0%), ketidakh murnian C tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (3,0%).

**Total.** Ketidakh murnian lain tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (3,0%).

**Abaikan batas.** Area dari puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (1,0%).

**Sulfat.** 27,0—31,0% dihitung dengan standar terhadap zat kering. Larutkan 0,25 g dalam 100 ml air dan atur pH 11,0 dengan amoniak pekat. Tambah 10,0 ml barium klorida 0,1 M dan 0,5 mg ungu ftalen. Titrasi dengan natrium edetat 0,1 M, tambah 50 ml alkohol ketika warna larutan mulai berubah dan lanjutkan titrasi sampai warna violet-biru hilang. Setiap ml barium klorida 0,1 M setara dengan 9,606 mg SO<sub>4</sub>.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih 8,0%. Pada pengeringan dengan suhu 60°C di atas difosforus pentoksida, tekanan tidak melebihi 0,7 kPa selama 3 jam. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih 1,0%, gunakan 1 g.

**Sterilitas.** Memenuhi syarat uji sterilitas.

**Endotoksin bakteri.** Kurang dari 1,3 IU/mg.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

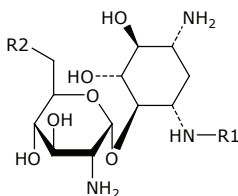
#### Penyimpanan

Kedap udara, terlindungi dari cahaya.

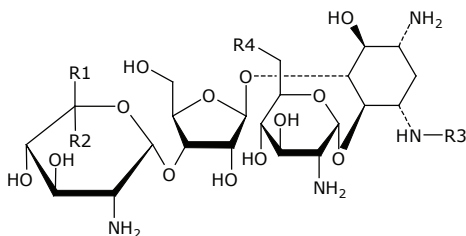
#### Penandaan

Dinyatakan steril, bebas dari endotoksin bakteri.

#### Ketidakhurnian



- A. R1 = H, R2 = NH<sub>2</sub>: 2-deoksi-4-O-(2,6-diamino-2,6-dideoksi- $\alpha$ -D-glukopiranosil)-D-streptomina (neamina atau neomisin A-LP).
- B. R1 = CO-CH<sub>3</sub>, R2 = NH<sub>2</sub>: 3-N-asetil-2-deoksi-4-O-(2,6-diamino-2,6-dideoksi- $\alpha$ -D-glukopiranosil)-D-streptomina (3-asetilneamina).
- D. R1 = H, R2 = OH: 4-O-(2-amino-2-deoksi- $\alpha$ -D-glukopiranosil)-2-deoksi-D-streptomina (paromamina atau neomisin D).



- C. R1 = CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, R2 = R3 = H, R4 = NH<sub>2</sub>: 2-deoksi-4-O-(2,6-diamino-2,6-dideoksi- $\alpha$ -D-glukopiranosil)-5-O-[3-O-(2,6-diamino-2,6-dideoksi- $\alpha$ -D-glukopiranosil)- $\beta$ -D-ribofuranosil]-D-streptomina (neomisin C).
- E. R1 = R3 = H, R2 = CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, R4 = OH: 4-O-(2-amino-2-deoksi- $\alpha$ -D-glukopiranosil)-2-deoksi-5-O-[3-O-(2,6-diamino-2,6-dideoksi- $\beta$ -L-idopiranosil)- $\beta$ -D-ribofuranosil]-D-streptomina (neomisin B-LP).

sil)- $\beta$ -D-ribofuranosil]-D-streptomina (paromomisin I atau neomisin E).

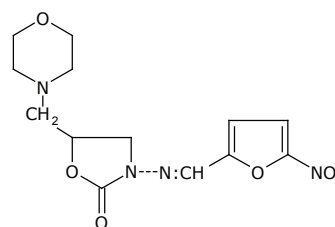
- F. R1 = CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, R2 = R3 = H, R4 = OH: 4-O-(2-amino-2-deoksi- $\alpha$ -D-glukopiranosil)-2-deoksi-5-O-[3-O-(2,6-diamino-2,6-dideoksi- $\alpha$ -D-glukopiranosil)- $\beta$ -D-ribofuranosil]-D-streptomina (paromomisin II atau neomisin F).
- G. R1 = H, R2 = CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, R3 = CO-CH<sub>3</sub>, R4 = NH<sub>2</sub>: 3-N-asetil-2-deoksi-4-O-(2,6-diamino-2,6-dideoksi- $\alpha$ -D-glukopiranosil)-5-O-[3-O-(2,6-diamino-2,6-dideoksi- $\beta$ -L-idopiranosil)- $\beta$ -D-ribofuranosil]-D-streptomina (neomisin B-LP).

#### Khasiat

Antibiotik.

## Furaltadon

*Furaltadone*



C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>

BM: 324,3

[59302-14-6]

#### Definisi

Furaltadon mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal, kuning, tidak berbau, rasa pahit.

**Kelarutan.** Larut dalam 2000 bagian air, 1000 bagian alkohol, 300 bagian kloroform, praktis tidak larut dalam eter.

#### Identifikasi

Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 50 volume kloroform, 40 ml nitrometan dan 10 volume metanol.

**Larutan (1).** Pada 5 mg furaltadon, tambah 1 ml aseton, aduk dan biarkan terpisah. Sentrifus dan gunakan cairan supernatan.

**Larutan (2).** Standar furaltadon 0,5% b/v dalam aseton.

Totolkan 10  $\mu$ l dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sama pada tempat dan ukuran dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (2).

**Suhu lebur.** 205°C.

**Keasaman.** Larutan 1% b/v, pH 4,5—5,5.

**Penetapan kadar**

Lakukan penetapan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Pada 35,0 mg zat uji tambah 50 ml dimetilformamid, aduk dan saring. (Jika diperlukan, panaskan di atas penangas air sampai zat uji terlarut). Pada 10 ml hasil saringan, encerkan dengan dimetilformamid sampai batas volume 100 ml dan saring. Pada 10 ml hasil saringan, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml. Ukur serapan pada panjang gelombang 367 nm.

**Penyimpanan**

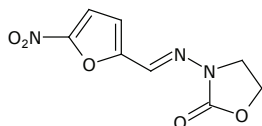
Dalam wadah tertutup rapat.

**Khasiat**

Anti-bakteri.

## Furazolidon

*Furazolidone*



$C_8H_7N_3O_5$

BM: 225,2

[67-45-8]

**Definisi**

Furazolidon adalah 3-(5-nitrofurfurili-den-amino) oksazolidin-2-on.

Mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0% dari  $C_8H_7N_3O_5$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal kuning.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air dan etanol (96%), praktis tidak larut dalam eter.

**Identifikasi**

- A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar furazolidon.
- B. Larutkan 1 mg dalam 1 ml dimetil-formamid dan tambah 0,05 ml kalium hidroksida-etanol 1 M. Terbentuk warna biru.

**Keasaman-kebasaan.** Kocok 1 g selama 15 menit dengan 100 ml air bebas karbondioksida dan saring. pH hasil saringan adalah 4,5—7,0.

**Nitrofurfural diasetat.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G.

**Fase gerak.** Campur 95 volume toluen dan 5 volume 1,4-dioksan.

**Larutan (1).** Larutkan 50 mg zat uji dalam 5 ml dimetilformamid dengan pemanasan di atas penangas air, dinginkan dan encerkan dengan aseton sampai

volume 10 ml.

**Larutan (2).** Standar nitrofurfural diasetat 0,010% w/v dalam campuran dimetilformamid dan aseton dengan volume yang sama.

Totolkan 20  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng, panaskan pada suhu 105°C selama 5 menit dan semprot dengan larutan (0,75 g fenilhidrazin hidroklorida dalam 10 ml etanol (96%) dan encerkan dengan air sampai batas volume 50 ml). Tambah arang aktif, saring dan tambah 25 ml asam hidroklorida serta encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml. Bercak lain nitrofurfural diasetat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.

**Penetapan kadar**

Pada 80 mg tambah 150 ml dimetilformamid, aduk dan tambah air sampai batas volume 500 ml. Encerkan 5 ml larutan dengan air sampai batas volume 100 ml dan aduk. Ukur serapan maksimum pada panjang gelombang 367 nm. Hitung jumlah  $C_8H_7N_3O_5$  dengan 750 sebagai nilai A (1%, 1 cm).

**Penyimpanan**

Dilindungi dari cahaya.

**Khasiat**

Anti bakteri, anti jamur, anti protozoa.

## Furazolidon Serbuk Oral

**Definisi**

Mengandung furazolidon tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

- A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar furazolidon.
- B. Larutkan 1 mg dalam 1 ml dimetilformamid dan tambah 0,05 ml kalium hidroksida-etanol 1 M. Terbentuk warna biru.

**Penetapan kadar**

Lakukan dengan spektrofotometer, menggunakan:

Pada sediaan setara dengan 35 mg furazolidon, tambah 50 mg dimetilformamida dan kocok selama 20 menit. Tambah air sampai batas volume 500 ml, saring.

Pada 10 ml hasil saringan tambahkan air sampai batas volume 100 ml. Ukur serapan pada panjang gelombang 367 nm.

**Penyimpanan**

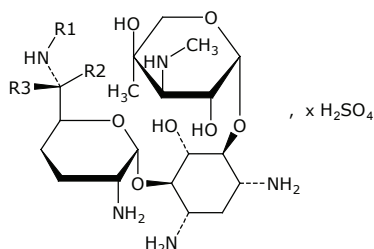
Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Gentamisin Sulfat

*Gentamicin Sulphate*



Gentamisin	Rumus Mol.	R1	R2	R3
C1	C <sub>21</sub> H <sub>43</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H
C1a	C <sub>19</sub> H <sub>39</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	H	H	H
C2	C <sub>20</sub> H <sub>41</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H
C2a	C <sub>20</sub> H <sub>41</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	H	H	CH <sub>3</sub>
C2b	C <sub>20</sub> H <sub>41</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H

[1405-41-0]

**Definisi**

Campuran sulfat dari zat anti mikroba yang diproduksi oleh *Micromonospora purpurea*, dengan komponen utama adalah gentamisin C1, C1a, C2, C2a dan C2b. Mengandung tidak kurang dari 590 IU/mg dengan standar terhadap zat anhidrat.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih, higroskopik.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, praktis tidak larut dalam alkohol.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: C, D.

Identifikasi kedua: A, B, D.

A. Larutkan 10 mg dalam 1 ml air dan tambahkan 5 ml asam sulfat (400 g/l). Panaskan di atas penangas air selama 100 menit, dinginkan dan encerkan dengan air sampai batas volume 25 ml. Ukur serapan pada panjang gelombang 240 nm dan 330 nm, tidak menunjukkan serapan maksimum.

B. Dengan kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25 mg zat uji dalam air sampai volume 5 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 25 mg standar gentamisin sulfat dalam air sampai volume 5 ml.

**Lempeng.** Silika gel.

**Fase gerak.** Campuran amoniak pekat, metanol dan metilen klorida dengan volume yang sama.

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan

di udara. Semprot dengan larutan ninhidrin dan panaskan pada suhu 110°C selama 5 menit.

**Hasil.** 3 bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama pada tempat, warna dan ukuran 3 bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar.

C. Pada kromatogram yang diperoleh dari uji komposisi.

**Hasil.** Pada kromatogram yang diperoleh larutan uji menunjukkan 5 puncak utama yang mempunyai waktu tambat yang sama dengan puncak utama yang diperoleh dengan standar (a).

D. Memberikan reaksi sulfat.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 0,8 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 20 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan 6 intensitas larutan standar.

**pH.** Larutan S 3,5—5,5.

**Rotasi jenis.** +107° sampai +121° (zat anhidrat). Larutkan dan encerkan 2,5 g dengan air sampai batas volume 25,0 ml.

**Komposisi.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

Prosedur normalisasi untuk gentamisin C1, C1a, C2, C2a dan C2b.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50 mg zat uji dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan isi vial standar gentamisin sulfat dengan fase gerak sampai diperoleh larutan 0,5 mg/ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5,0 ml larutan standar (a) dengan fase gerak sampai volume 100,0 ml.

**Kolom.** Kopolimer stiren-divinilbenzen 8 µm, ukuran 0,25 m x 4,6 mm, atau yang dengan suhu 55°C.

**Fase gerak.** Campur natrium sulfat anhidrat (60 g/l), natrium oktansulfonat (1,75 g/l), tetrahidrofuran (8 ml/l), kalium dihidrogen fosfat 0,2 M (50 ml/l) dalam air bebas karbon dioksida, atur pH 3,0 dengan asam fosfat encer dan hilangkan gas.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Larutan pos kolom.** Encerkan larutan natrium hidroksida bebas karbonat 1 sampai 25, sebelumnya hilangkan gas, gunakan 375 µl.

**Laju alir.** 0,3 ml/menit.

**Detektor.** Amperometrik atau ekivalen dengan indikator elektroda emas, elektroda standar perak atau perak klorida dan elektroda bantu baja tahan karat sebagai badan sel, deteksi +0,05 V, oksidasi +0,75 V dan pengurangan potensial -0,15 V, dengan waktu sesuai dengan instrumen yang digunakan.

**Injek.** 20 µl.

**Waktu uji.** 1,2 kali waktu tambat gentamisin C1.

**Kesesuaian sistem**

**Larutan standar (a).** Perbandingan antara puncak dan dasar minimum 2,0 dimana:

$H_p$  = tinggi garis atas puncak gentamisin C2a.

$H_v$  = tinggi titik paling rendah dari kurva pemisahan puncak gentamisin C2.

**Batas**

**Gentamisin C1.** 20,0—40,0%.

**Gentamisin C1a.** 10,0—30,0%.

**Jumlah gentamisin C2, C2a, dan C2b.** 40—60%.

**Abaikan batas.** Area puncak gentamisin C1a pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dalam uji komposisi, dengan modifikasi berikut:

**Batas.** (Untuk elusi senyawa sejenis sebelum gentamisin C1a):

**Ketidakh murnian lain.** Tidak lebih dari 3,0%.

**Total.** Tidak lebih dari 10,0%.

**Metanol.** Tidak lebih dari 1,0%.

**Sulfat.** 32,0—35,0% dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat. Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam air suling sampai batas volume 100 ml dan atur pH 11 dengan amoniak pekat. Tambah 10,0 ml barium klorida 0,1 M dan 0,5 mg ungu ftalein. Titrasi dengan natrium edetat 0,1 M, tambah 50 ml alkohol ketika warna larutan mulai berubah dan lanjutkan titrasi sampai warna violet-biru hilang. Setiap ml barium klorida 0,1 M setara dengan 9,606 mg  $SO_4$ .

**Air.** Tidak lebih dari 15,0%. Gunakan 0,3 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 1%. Gunakan 0,5 g

**Endotoksin bakteri.** Tidak lebih 0,71 IU/mg.

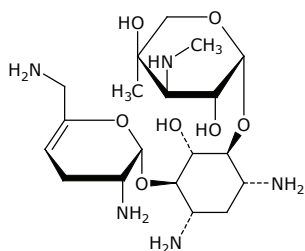
**Penetapan potensi**

Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

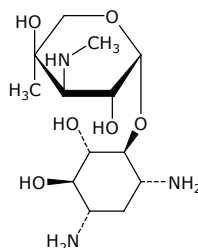
**Penyimpanan**

Kedap udara.

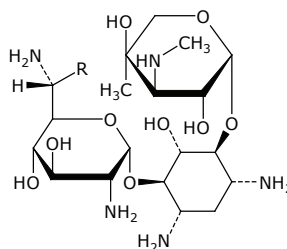
**Ketidakh murnian**



A. 2-deoksi-4-O-[3-deoksi-4-C-metil-3-(metil-amino)-β-L-arabinopiranosil]-6-O-(2,6-diamino-2,3,4,6-tetradeoksi-α-D-glisero-hekso-4-enopiranosil)-L-streptamina (sisomisin).

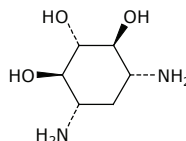


B. 2-deoksi-4-O-[3-deoksi-4-C-metil-3-(metil-amino)-β-L-arabinopiranosil]-L-streptamina (garamina).



C. R =  $CH_3$ , R' = OH: 4-O-(6-amino-6,7-dideoksi-D-glisero-α-D-gluko-heptopiranosil)-2-deoksi-6-O-[3-deoksi-4-C-metil-3-(metil-amino)-β-L-arabinopiranosil]-D-streptamina (gentamisin B<sub>1</sub>).

D. R = H, R' =  $NH_2$ : 2-deoksi-4-O-[3-deoksi-4-C-metil-3-(metil-amino)-β-L-arabinopiranosil]-6-O-(2,6-diamino-2,6-dideoksi-α-D-gluko-hekso-piranosil)-L-streptamina.



E. 2-deoksistreptamina.

**Khasiat**

Antibiotik.

**Gentamisin Injeksi**

**Definisi**

Gentamisin injeksi berisi gentamisin sulfat dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25 mg zat uji dalam air sampai volume 5 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 25 mg standar gentamisin sulfat dalam air sampai volume 5 ml.

**Lempeng.** Silika gel.

**Fase gerak.** Campuran amoniak pekat, metanol dan metilen klorida dengan volume yang sama.

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan larutan ninhidrin dan panaskan pada suhu 110°C selama 5 menit.

**Hasil.** 3 bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama pada tempat, warna dan ukuran 3 bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar.

B. Pada kromatogram yang diperoleh dari uji komposisi.

**Hasil.** Pada kromatogram yang diperoleh larutan uji menunjukkan 5 puncak utama yang mempunyai waktu tambat yang sama dengan puncak utama yang diperoleh dengan standar (a).

C. Memberikan reaksi sulfat.

**Keasaman.** pH 3,0 sampai 5,5.

**Komposisi.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

Prosedur normalisasi untuk gentamisin C1, C1a, C2, C2a dan C2b.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50 mg zat uji dalam fase gerak sampai volume 100,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan isi vial standar gentamisin sulfat dengan fase gerak sampai diperoleh larutan 0,5 mg/ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5,0 ml larutan standar (a) dengan fase gerak sampai volume 100,0 ml.

**Kolom.** Kopolimer stiren-divinilbenzen 8 µm, ukuran 0,25 m x 4,6 mm, dengan suhu 55°C.

**Fase gerak.** Campur natrium sulfat anhidrat (60 g/l), natrium oktansulfonat (1,75 g/l), tetrahidrofuran (8 ml/l), kalium dihidrogen fosfat 0,2 M (50 ml/l) dalam air bebas karbon dioksida, atur pH 3,0 dengan asam fosfat encer dan hilangkan gas.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Larutan pos kolom.** Encerkan larutan natrium hidroksida bebas karbonat 1 sampai 25, sebelumnya hilangkan gas, gunakan 375 µl.

**Laju alir.** 0,3 ml/menit.

**Detektor.** Amperometrik atau ekivalen dengan indikator elektroda emas, elektroda standar perak atau perak klorida dan elektroda bantu baja tahan karat sebagai badan sel, deteksi +0,05 V, oksidasi +0,75 V dan pengurangan potensial -0,15 V, dengan waktu sesuai dengan instrumen yang digunakan.

**Injek.** 20 µl.

**Waktu uji.** 1,2 kali waktu tambat gentamisin C1.

#### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (a).** Perbandingan antara puncak dan dasar minimum 2,0 dimana:

$H_p$  = tinggi garis atas puncak gentamisin C2a.

$H_v$  = tinggi titik paling rendah dari kurva pemisahan puncak gentamisin C2.

#### Batas

**Gentamisin C1.** 20,0—40,0%.

**Gentamisin C1a.** 10,0—30,0%.

**Jumlah gentamisin C2, C2a, dan C2b.** 40,0—60,0%.

**Abaikan batas.** Area puncak gentamisin C1a pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b).

**Endotoksin bakteri.** Tidak lebih dari 16,7 IU/ml

#### Penetapan potensi

Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

#### Penyimpanan

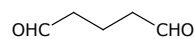
Dalam wadah tertutup, kedap udara, steril dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Glutaraldehid

### Larutan Pekat



$C_5H_8O_2$

BM: 100,1

[111-30-8]

#### Definisi

Glutaraldehid larutan pekat adalah larutan mengandung air dari glutaraldehid (pentanedial).

Mengandung tidak kurang dari 47,0% dan tidak lebih dari 53,0% b/b dari glutaraldehid,  $C_5H_8O_2$ .

#### Karakteristik

**Pemerian.** Larutan tidak berwarna atau hampir tidak berwarna.

#### Identifikasi

A. Panaskan 1 ml dengan 10 ml larutan yang mengandung 1 g hidroksilamin dan 2 g natrium asetat dalam air di atas penangas air selama 10 menit, dinginkan dan saring. Suhu lebur residu sekitar 178°C, setelah pembilasan dengan air dan pengeringan pada suhu 105°C.

B. Tambahkan 0,05 ml dalam 2 ml larutan amonium perak nitrat (larutkan 2,5 g perak nitrat dalam 80 ml air, tambah amoniak 6M setetes demi setetes sampai endapan larut dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml) dan aduk dengan perlahan-lahan.

**Keasaman.** Encerkan 10 ml dengan 10 ml air bebas karbon dioksida. Titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 M dan gunakan larutan bromotimol biru sebagai indikator. Tidak lebih dari 5,0 ml natrium hidroksida 0,1 M yang diperlukan untuk mengubah warna larutan.

**Kejernihan dan warna larutan.** Encerkan 1 volume dengan 4 volume air. Larutan jeerni dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar  $B_6$ .

**Berat jenis.** 1,126—1,134 g/ml.

### Penetapan kadar

Larutkan 4 g dalam 100 ml hidrosilamin hidroklorida 7% b/v (sebelumnya dinetralkan terhadap bromofenol biru dengan natrium hidroksida 1 M) dan diamkan selama 30 menit. Tambahkan 20 ml petroleum benzin (suhu didih 40°—60°C) dan titrasi dengan natrium hidroksida 1 M sampai warna fase air sama dari hidrosilamin hidroklorida 7% b/v (sebelumnya dinetralkan terhadap bromofenol biru dengan natrium hidroksida 1 M). Setiap ml natrium hidroksida 1 M setara dengan 50,05 mg  $C_5H_8O_2$ .

### Penyimpanan

Disimpan pada suhu tidak melebihi 15°C.

### Khasiat

Antiseptik, desinfektan.

## Glutaraldehid Larutan

### Definisi

Glutaraldehid larutan adalah larutan glutaraldehid pekat dalam campuran air murni dan etanol (96%) atau pembawa yang sesuai.

Larutan memenuhi persyaratan yang ditentukan untuk sediaan larutan dan persyaratan berikut.

Mengandung glutaraldehid tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari etiket yang tertera.

### Identifikasi

- Panaskan 5 ml sediaan dengan 10 ml larutan yang mengandung 1 g hidrosilamin hidroklorida dan 2 g natrium asetat dalam air di atas penangas air selama 10 menit, dinginkan dan saring. Suhu lebur residu sekitar 178°C.
- Pada 1 ml sediaan, tambah 2 ml amoniak perak nitrat, dan aduk selama beberapa menit, perak terdeposit.

**Etanol.** 50—60% v/v.

### Penetapan kadar

Pada 10 ml sediaan tambah 100 ml hidrosilamin hidroklorida 7% v/v yang sebelumnya dinetralkan terhadap bromofenol biru dengan natrium hidroksida 1 M, diamkan selama 30 menit. Tambah 20 ml petroleum benzin (suhu didih 40°—60°C), titrasi dengan natrium hidroksida 1 M sampai warna pada fase air sesuai larutan hidrosilamin hidroklorida 7% v/v yang telah dinetralkan terhadap bromofenol biru dengan natrium hidroksida 1 M. Setiap ml natrium hidroksida setara dengan 50,05 mg  $C_5H_8O_2$ .

### Penyimpanan

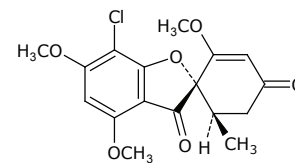
Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Griseofulvin

*Griseofulvin*



$CH_{17}ClO_6$

BM: 352,8

[126-07-8]

### Definisi

Griseofulvin adalah (1'S,3-6'R)-7-kloro-2',4,6-trimetoksi-6'-metilspiro[benzofuran-2(3H),1'-[2]sikloheksen]-3,4'dion, yang diproduksi dari pertumbuhan strain *Penicillium griseofulvum* atau dengan cara yang sesuai.

Mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 102,0% dari  $C_{17}H_{17}ClO_6$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau putih kekuningan.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam dimetilformamid dan tetrakloro etan, sukar larut dalam etanol dan metanol.

**Suhu lebur.** 220°C.

### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar griseofulvin.
- Larutkan 5 mg dalam 1 ml asam sulfat dan tambah 5 mg kalium dikromat. Terbentuk warna merah anggur.

**Kejernihan larutan.** Larutkan dan encerkan 0,75 g dalam dimetilformamid sampai volume 10 ml. Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar  $Y_4$ .

**Keasaman.** Suspensikan 0,25 g dalam 20 ml alkohol dan tambah 0,1 ml larutan fenoltalein. Tidak lebih dari 1,0 ml natrium hidroksida 0,02 M yang diperlukan untuk merubah warna indikator.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam dimetilformamid sampai volume 25 ml. Rotasi jenis +354° sampai +364°, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan standar internal.** Larutkan dan encerkan difenilantrasen dalam aseton sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam aseton sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan 0,1 g zat uji dalam aseton, tambah 1,0 ml larutan standar internal dan encerkan dengan aseton sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar.** Larutkan 5,0 mg standar griseofulvin dalam aseton, tambah 1,0 ml larutan standar internal

dan encerkan dengan aseton sampai volume 10,0 ml.

**Kolom.** Poli[(sianopropil)(metil)][(fenil) (metil)] siloksan 1% b/b, ukuran 1 m x 4 mm, atau yang sesuai, suhu 250°C, suhu injektor 270°C.

**Gas pembawa.** Nitrogen.

**Laju alir.** 50—60 ml/menit.

**Detektor.** Flame Ionisation Detector (FID), suhu detektor 300°C.

Lanjutkan kromatografi 3 kali waktu tambat griseofulvin sekitar 11 menit. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar, perbandingan area puncak griseofulvin terhadap puncak standar internal. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b), perbandingan area puncak deklorogriseofulvin (waktu tambat sekitar 0,6 kali griseofulvin) terhadap puncak standar internal, juga perbandingan area puncak dehidrogriseofulvin (waktu tambat sekitar 1,4 kali griseofulvin) terhadap puncak standar internal.

Perbandingan kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) dengan larutan standar adalah kurang dari 0,6 deklorogriseofulvin dan kurang dari 0,15 dehidrogriseofulvin.

**Kelarutan dalam petroleum eter.** Pada 1,0 g tambah 20 ml petroleum eter. Panaskan di bawah refluks kondensor selama 10 menit. Dinginkan, saring dan bilas tiga kali, masing-masing 15 ml petroleum eter. Campur hasil saringan dan hasil pembilasan, evaporasikan dalam evaporator sampai mendekati kering pada suhu 105°C selama 1 jam. Jumlah residu tidak kurang dari 2 mg (0,2%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0% pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih 0,2%. Gunakan 1,0 g.

**Toksisitas abnormal.** Pada 5 ekor tikus putih, dengan berat masing-masing 17—22 g, pemberian secara oral dari 0,1 g zat uji dalam 0,5—1 ml air. Tidak ada tikus putih mati selama 48 jam.

#### Penetapan kadar

Larutkan dan encerkan 80,0 mg dalam etanol sampai batas volume 200 ml. Encerkan 2,0 ml larutan dengan etanol sampai batas volume 100 ml. Ukur serapan maksimum pada panjang gelombang 291 nm.

#### Khasiat

Anti jamur.

## Griseofulvin Serbuk Oral

#### Definisi

Griseofulvin serbuk oral mengandung griseofulvin dalam pembawa yang sesuai. Partikel griseofulvin secara umum berukuran maksimum 5 µm, terkadang terdapat partikel lebih besar, yang melebihi 30 µm. Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk serbuk oral dan persyaratan berikut.

Mengandung griseofulvin, C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>ClO<sub>6</sub> tidak kurang

dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

- Kocok sediaan, setara 100 mg griseofulvin dengan 10 ml kloroform dan sentrifus, tuangkan supernatan, keringkan dengan natrium sulfat anhidrat dan uapkan fase kloroform. Spektrum serapan inframerah dari residu sesuai dengan spektrum serapan standar griseofulvin.
- Kocok sediaan, setara 80 mg griseofulvin dengan 150 ml etanol (96%). Encerkan sampai batas volume 200 ml dengan etanol (96%) dan sentrifus. Encerkan 2 ml supernatan sampai batas volume 100 ml dengan etanol (96%). Serapan cahaya larutan pada 240—350 nm, menunjukkan dua maksimum pada 291 nm dan 325 nm serta suatu bahu pada 250 nm.
- Larutkan 5 mg residu yang diperoleh dalam uji A dengan 1 ml asam sulfat dan tambah 5 mg kalium dikromat. Terbentuk warna merah anggur.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi gas menggunakan:

**Larutan standar internal.** Larutkan dan encerkan 50 mg 9,10-difenilantrasen (standar internal) dalam kloroform sampai batas volume 50 ml (larutan A).

**Larutan (1).** Larutkan 5 mg standar griseofulvin dalam kloroform, tambah 2 ml larutan A dan kloroform sampai batas volume 200 ml. Uapkan 20 ml larutan hingga 1 ml.

**Larutan (2).** Larutkan dan encerkan sediaan uji dengan kloroform sampai konsentrasi 50 mg griseofulvin per ml. Panaskan pada suhu 60°C sambil di aduk selama 20 menit, dinginkan dan encerkan sampai batas volume 100 ml dengan kloroform. Sentrifus dan uapkan 20 ml supernatan sampai volume 1 ml.

**Larutan (3).** Lakukan dengan cara yang sama dengan larutan (2) tetapi tambah 1 ml larutan A sebelum pengenceran sampai batas volume 100 ml dengan kloroform.

**Kolom.** Gelas OV 225, ukuran 1 m × 4 mm, mesh 100–120, atau yang sesuai, suhu 250°C.

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3), perbandingan area puncak deklorogriseofulvin (waktu tambat sekitar 0,6 kali dari pada griseofulvin) dan area puncak dehidrogriseofulvin (waktu tambat sekitar 1,4 kali dari pada griseofulvin) dengan area puncak standar internal, berturut-turut, tidak lebih besar dari 0,6 kali dan 0,15 kali perbandingan area puncak griseofulvin dengan standar internal pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1).

#### Penetapan kadar

Sediaan setara dengan 35 mg griseofulvin tambah 60 ml etil asetat, aduk kemudian panaskan pada suhu 60°C selama 15 menit. Biarkan dingin dan encerkan sampai batas volume 100 ml dengan etil asetat. Sentrifus dan transfer masing-masing 5 ml supernatan ke dalam 2 buah labu pisah berskala 100 ml. Pada labu pertama, tambah 5,0 ml larutan asam metanesulfonat 13% v/v dalam metanol, biarkan pada suhu 20°C selama 30



menit dan encerkan sampai batas volume 100 ml dengan metanol (larutan A). Encerkan labu ke dua sampai batas volume 100 ml metanol (larutan B). Pada labu ke tiga, tambah 5,0 ml larutan metanol-asam metansulfonat dan encerkan sampai batas volume 100 ml dengan metanol (larutan C). Ukur serapan masing-masing larutan pada panjang gelombang 266 nm.

Hitung kadar  $C_{17}H_{17}ClO_6$  dari perbedaan antara serapan larutan A dan jumlah serapan larutan B dan C B and C serta dari perbedaan yang diperoleh dengan pengulangan menggunakan standar griseofulvin.

### Penyimpanan

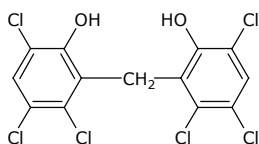
Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Heksaklorofen

*Hexachlorophene*



$C_{13}H_6Cl_6O_2$

BM: 406,9

[70-30-4]

### Definisi

Heksaklorofen adalah 2,2-metilenebis(3,4,6-trikloro-fenol).

Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 100,5% dari  $C_{13}H_6Cl_6O_2$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air; sangat mudah larut dalam aseton, mudah larut dalam etanol (96%). Larut dalam larutan alkali hidroksida encer.

### Identifikasi

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar heksaklorofen.

**Klorida.** Larutkan 0,5 g dalam 2 ml etanol (96%), encerkan dengan air sampai batas volume 25 ml dan saring. Encerkan 5 ml hasil saringan dengan air sampai volume 15 ml, memenuhi uji batas klorida (500 ppm).

**Zat bukan fenol.** Larutkan 5 g dalam 38 ml metanol, tambah 125 ml natrium hidroksida 0,25 M dan ekstrak tiga kali dengan 15 ml n-pentan. Keringkan ekstrak diatas natrium sulfat anhidrat dan uapkan sampai mendekati kering pada tekanan tidak melebihi 2 kPa. Jumlah residu tidak lebih dari 37,5 mg pada pengeringan dengan bobot tetap (0,75%).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromato-

grafi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Zat uji 0,020% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Zat uji 1,0% b/v dalam metanol.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil (Spherisorb ODS 1 atau yang sesuai) 10  $\mu$ m, ukuran 20 cm  $\times$  4,6 mm.

**Fase gerak.** Campur 100 volume metanol, 20 volume air dan 1 volume asam asetat glasial.

**Laju alir.** 2 ml/menit serta.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 300 nm.

**Injek.** 20  $\mu$ l dari larutan (1) dan (2). Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) jumlah area puncak lain selain puncak utama dengan waktu tambat tidak lebih dari 3 kali puncak utama tidak lebih besar dari dua kali lebih area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) (4,0%) dan tidak lebih dari satu puncak yang mempunyai area lebih besar dari setengah area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) (1,0%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.

### Penetapan kadar

Larutkan 1,0 g dalam 25 ml etanol (96%, atur pH 9,0) dan titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 M, tentukan titik akhir secara potensiometrik.

Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 40,69 mg  $C_{13}H_6Cl_6O_2$ .

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Khasiat

Antiseptik.

## Hidrat Aluminium Magnesium Silikat

*Hydrate Aluminium Magnesium Silicate*

### Definisi

Hidrat aluminium magnesium silikat adalah campuran dari partikel koloidal dari *montmorillonite* dan *saponite*, bebas dari debu dan biji yang tidak mengembang.

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah aluminium dan magnesium yang tertera pada etiket.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk atau granul putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air dan pelarut organik. Dalam air akan terdispersi.

**Identifikasi**

- A. Larutkan 1 g dengan 2 g natrium karbonat anhidrat. Hangatkan residu dengan air dan saring. Asamkan dengan asam hidroklorida dan uapkan sampai mendekati kering diatas penangas air. 0,25 g residu memberikan reaksi silikat.
- B. Larutkan residu untuk identifikasi A dalam campuran 5 ml asam hidroklorida encer dan 10 ml. Saring dan tambah dapar amonium klorida pH 10,0. Terbentuk endapan putih bersifat gelatin. Sentrifus, ambil supernatan untuk identifikasi C. Larutkan sisa endapan dalam asam hidroklorida encer, memberikan reaksi aluminium
- C. Cairan supernatan memberikan reaksi magnesium
- pH.** Larutkan 5,0 g dalam 100 ml air bebas karbon, pH 9,0—10,0.

**Arsen.** Pindahkan 16,6 g dalam gelas piala berisi 100 ml asam hidroklorida encer. Campur, sumbat dengan gelas arloji, didihkan dan aduk, selama 15 menit. Alirkan supernatan ke kertas saring dan masukkan dalam labu-250 ml. Pada sedimen dalam gelas piala, tambah 25 ml asam hidroklorida encer yang panas, aduk dan didihkan. Alirkan supernatan ke dalam labu yang sama melalui kertas saring.

Ulangi proses ini menggunakan 25 ml asam hidroklorida encer yang panas. Pindahkan zat yang tidak larut ke kertas saring. Biarkan sampai dingin, campur dan encerkan sampai 250 ml dengan asam hidroklorida encer. Pada 5,0 ml larutan, encerkan sampai 25,0 ml dengan asam hidroklorida. Memenuhi uji batas arsen (3 ppm).

**Timbal (Pb).** Tidak lebih dari 15 ppm Pb, dengan spektrofotometri serapan atom menggunakan:

**Larutan uji.** Pindahkan 10,0 g ke dalam gelas piala-250 ml berisi 100 ml asam hidroklorida encer. Campur, tutup dengan gelas arloji dan didihkan selama 15 menit. Diamkan sampai batas volume dingin. Tuangkan cairan supernatan melalui kertas saring dan masukan dalam gelas piala 400 ml.

Ulangi proses ini 2 kali menggunakan 25 ml air. Bilas kertas saring dengan air panas. Campur, dan uapkan sampai 20 ml, bila terbentuk endapan, tambah 0,1 ml asam nitrat, panaskan sampai batas volume mendidih dan biarkan dingin. Saring ekstrak dengan kertas saring dan masukan ke dalam labu-50 ml. Pindahkan sisa isi ke dalam gelas piala 400 ml dengan bantuan air, encerkan sampai 50 ml.

**Larutan standar.** Gunakan larutan timbal (10 ppm Pb). Ukur serapan dengan menggunakan *hollow-cathode lamp* dan pembakar air asetilen.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 8,0%, pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai batas volume bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Kontaminasi mikrobial.** Total bakteri hidup tidak lebih dari 103 CFU/gram. Dan memenuhi uji *escherichia coli*.

**Penetapan kadar**

**Aluminium.** Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan:

**Larutan uji.** Campur 0,200 g dengan 1,0 g dari litium metaborat dalam cawan platinum. Panaskan pada suhu 1000°—1200°C selama 15 menit, dinginkan, tempatkan dalam gelas piala 100 ml yang berisi 25 ml asam nitrat encer dan tambah 50 ml asam nitrat encer, masukan magnetik stirer dan aduk sampai batas volume larut. Pindahkan dalam gelas piala 250 ml. Hangatkan larutan dan saring ke dalam labu 250 ml, tepatkan volume sampai 250 ml dengan air (larutan A).

Pada 20,0 ml larutan, tambah 20 ml larutan natrium klorida (10 g/l) dan encerkan sampai batas volume 100,0 ml dengan air.

**Larutan standar.** Larutkan 1 g aluminium dalam campuran 10 ml asam hidroklorida dan 10 ml air, panaskan. Dinginkan dan encerkan sampai 1000,0 ml dengan air (1 mg Al/ml). Masukan ke dalam tiga labu (berisi 0,2 g NaCl) yang berbeda, masing-masing 2,0 ml, 5,0 ml dan 10,0 ml encerkan sampai 100 ml dengan air.

Ukur serapan menggunakan spektrofotometer serapan atom dengan pembakar nitrous oxide air. Hitung kadar aluminium dalam zat uji.

**Magnesium.** Lakukan dengan cara spektrofotometer serapan atom.

**Larutan uji.** Encerkan 25,0 ml larutan A dengan air sampai volume 50,0 ml. Pada 5,0 ml larutan, tambah 20,0 ml lantanum nitrat dan encerkan dengan air sampai volume 100,0 ml.

**Larutan standar.** Pindahkan 1g magnesium dalam gelas piala 250 ml yang berisi 20 ml air. Secara hati-hati tambah 20 ml asam hidroklorida. Pindahkan larutan dan encerkan dengan air (1 mg/ml) sampai batas volume 1000,0 ml encerkan 5,0 ml dengan air sampai batas volume 250,0 ml. Pindahkan masing-masing 5,0 ml, 10,0 ml, 15,0 ml dan 20,0 ml ke dalam labu, tambah 20,0 ml lantanum nitrat dan encerkan dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

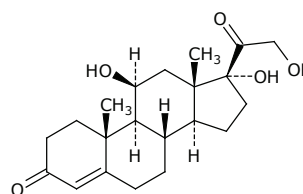
Ukur serapan dengan spektrofotometer serapan atom dengan pembakar air asetilen. Hitung kadar magnesium dalam zat uji.

**Khasiat**

Toksin binder, bahan pembantu.

**Hidrokortison**

*Hydrocortisone*



$C_{21}H_{30}O_5$

BM: 362,5

[50-23-7]

**Definisi**

Hidrokortison mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0% dari  $11\beta,17,21$ -trihidroksipregn-4-en-3,20-dion, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, agak sukar larut dalam aseton dan alkohol, sukar larut dalam metilen klorida. Terlihat polimorfism.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: C, D.

A. Spektrum serapan inframerah sama dengan spektrum serapan standar hidrokortison. Jika spektrum yang diperoleh zat padat (solid) menunjukkan perbedaan, larutkan zat uji dan zat standar secara terpisah dalam aseton, uapkan sampai kering dan catat spektrum baru dari residu.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel dengan indikator fluoresen dengan intensitas optimal pada panjang gelombang 254 nm.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 10 mg zat uji dalam campuran 1 volume metanol dan 9 volume metilen klorida sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar hidrokortison dalam campuran 1 volume metanol dan 9 volume metilen klorida sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar prednisolon dalam larutan standar (a) sampai volume 10 ml.

**Fase gerak A.** Pada campuran 15 volume eter dan 77 volume metilen klorida, tambah campuran 1,2 volume air dan 8 volume metanol.

**Fase gerak B.** Campur 5 volume butanol jenuh dengan air, 15 volume toluen dan 80 volume eter.

Totolkan 5  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan.

Kembangkan dalam fase gerak A sampai 15 cm, kembangkan kembali dalam fase gerak B sampai 15 cm. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa pada cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama pada tempat dan ukuran bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a). Semprot dengan larutan asam sulfat-alkohol. Panaskan pada suhu 120°C selama 10 menit atau sampai bercak nampak, dinginkan. Periksa kromatogram pada cahaya dan cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama pada tempat, ukuran, warna dan berfluoresensi dalam cahaya ultraviolet (365 nm) dengan bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a). Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

C. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel dengan indikator fluoresen dengan intensitas optimal pada panjang gelombang 254 nm.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 25 mg zat uji dalam metanol sampai volume 5 ml. Encerkan 2 ml larutan uji (a) dengan metilen klorida sampai volume 10 ml

**Larutan uji (b).** Larutkan dan encerkan 25 mg zat uji dalam metanol sampai volume 5 ml. Pindahkan 0,4 ml larutan ke dalam tabung gelas (100 mm x 20 mm) dan sumbat dengan politetrafluoroetilen dan uapkan dengan pemanasan perlahan-lahan dan alirkan dengan nitrogen. Tambah 2 ml asam asetat glasial 15% v/v dan 50 mg natrium bismutat. Sumbat tabung dan kocok dengan alat selama 1 jam, dilindungi dari cahaya. Tambah 2 ml larutan asam asetat glasial 15% v/v dan saring ke dalam labu pisah 50 ml, bilas saringan dua kali dengan 5 ml air. Kocok hasil saringan dengan 10 ml metilen klorida. Bilas lapisan organik dengan 5 ml natrium hidroksida 1M dan dua kali dengan 5 ml air. Keringkan di atas natrium sulfat anhidrat.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 25 mg standar hidrokortison dalam metanol sampai volume 5 ml. Encerkan 2 ml larutan dengan metilen klorida sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 25 mg standar hidrokortison dalam metanol sampai volume 5 ml. Pindahkan 0,4 ml larutan ke dalam tabung gelas (100 mm x 20 mm) dan sumbat dengan politetrafluoroetilen dan uapkan dengan pemanasan perlahan-lahan dan alirkan dengan nitrogen. Tambah 2 ml asam asetat glasial 15% v/v dan 50 mg natrium bismutat. Sumbat tabung dan kocok dengan alat selama 1 jam, dilindungi dari cahaya. Tambah 2 ml larutan asam asetat glasial 15% v/v dan saring ke dalam labu pisah 50 ml, bilas saringan dua kali dengan 5 ml air. Kocok hasil saringan dengan 10 ml metilen klorida. Bilas lapisan organik dengan 5 ml natrium hidroksida 1 M dan dua kali dengan 5 ml air. Keringkan di atas natrium sulfat anhidrat.

**Fase gerak A.** Pada campuran 15 volume eter dan 77 volume metilen klorida, tambah campuran 1,2 volume air dan 8 volume metanol.

**Fase gerak B.** Campur 5 volume butanol jenuh dengan air, 15 volume toluen dan 80 volume eter.

Totolkan secara terpisah pada lempeng dari 5  $\mu$ l larutan uji (a), 5  $\mu$ l larutan standar (a), 25  $\mu$ l larutan uji (b) dan 25  $\mu$ l larutan standar (b).

Kembangkan dalam fase gerak A sampai 15 cm, kembangkan kembali dalam fase gerak B sampai 15 cm. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa pada cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama pada tempat dan ukuran bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar. Semprot dengan larutan asam sulfat-alkohol. Panaskan pada suhu 120°C selama 10 menit atau sampai bercak

nampak, diinginkan. Periksa kromatogram pada cahaya dan cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama pada tempat, ukuran, warna dan berfluoresensi dalam cahaya ultraviolet (365 nm) dengan bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) dan larutan standar (b) nilai respon faktor tidak lebih besar dari bercak utama yang diperoleh dengan larutan uji (a) dan larutan standar (a).

- D. Tambah 2 mg pada 2 ml asam sulfat dan kocok sampai larut. Dalam 5 menit, terbentuk warna merah kecoklatan dengan fluoresensi hijau dalam cahaya ultraviolet (365 nm). Tambah 10 ml air dan aduk. Warna larutan memudar dan jernih. Masih berfluoresensi dalam cahaya ultraviolet.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam dioksan sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah  $+150^\circ$  sampai  $+156^\circ$ , dihitung terhadap zat kering.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 25,0 mg zat uji dalam 2 ml tetrahidrofuran dan encerkan dengan air sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 2 mg standar hidrokortison dan 2 mg standar prednisolon dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Silika gel end-capped oktadesilsilil (tidak aktif)  $5\ \mu\text{m}$ , ukuran  $0,25\ \text{m} \times 4,6\ \text{mm}$ , atau yang sesuai dengan suhu kolom  $45^\circ\text{C}$ .

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Fase gerak.** Campur 220 ml tetrahidrofuran dengan 700 ml air, ekuilibrasikan dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml dan aduk.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Ekuilibrasikan kolom dengan fase gerak pada laju alir 1 ml/menit selama 30 menit. Atur kesesuaian sistem sedemikian rupa sehingga tinggi puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan  $20\ \mu\text{l}$  dari larutan standar (b) sedikitnya 50%. Injek  $20\ \mu\text{l}$  dari larutan standar (a).

Waktu tambat prednisolon sekitar 14 menit dan hidrokortison sekitar 15,5 menit. Uji tidak absah kecuali jika, resolusi antara puncak prednisolon dan hidrokortison sedikitnya 2,2. Jika perlu, atur konsentrasi tetrahidrofuran dalam fase gerak.

Injek  $20\ \mu\text{l}$  secara terpisah campuran pelarut dari larutan uji sebagai blanko, larutan uji dan larutan standar (b). Lanjutkan kromatografi larutan uji untuk empat kali waktu tambat puncak utama.

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, area puncak lain, selain dari puncak utama, tidak

lebih besar dari 0,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%), jumlah area semua puncak, selain dari puncak utama, tidak lebih besar dari 1,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,5%).

Abaikan puncak lain dengan blanko dan puncak lain dengan area kurang dari 0,05 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0%. Pada pengeringan dengan suhu  $105^\circ\text{C}$  sampai bobot tetap. Gunakan 0,5 g.

### Penetapan kadar

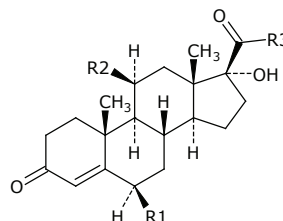
Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam alkohol sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 2,0 ml larutan dengan alkohol sampai batas volume 100,0 ml. Ukur serapan maksimum pada panjang gelombang 241,5 nm. Hitung  $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_5$  dengan serapan spesifik 440.

### Penyimpanan

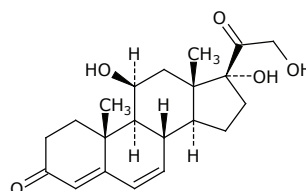
Dilindungi dari cahaya.

### Ketidakhurnian

- Prednisolon.
- Kortison.
- Hidrokortison asetat.



- $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{OH}$ ,  $\text{R}_3 = \text{CH}_2\text{OH}$ :  $6\beta,11\beta,17,21$ -tetrahidroksipregna-4-en-3,20-dion ( $6\beta$ -hidroksihidrokortison).
- $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{H}$ ,  $\text{R}_3 = \text{CH}_2\text{OH}$ :  $17,21$ -dihidroksipregna-4-en-3,20-dion (substansi Reichstein's).
- $\text{R}_1 = \text{H}$ ,  $\text{R}_2 = \text{OH}$ ,  $\text{R}_3 = \text{CHO}$ :  $11\beta,17$ -dihidroksi-3,20-dioksopregna-4-en-21-al.



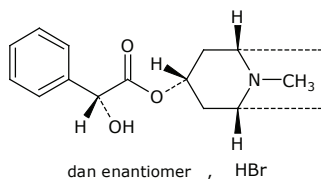
- $11\beta,17,21$ -trihidroksipregna-4,6-dien-3,20-dion ( $\Delta^6$ -hidrokortison).

### Khasiat

Kortikosteroid.

## Homatropin Hidrobromida

*Homatropine Hydrobromide*



dan enantiomer , HBr

$C_{16}H_{21}NO_3 \cdot HBr$

BM: 356,3

[51-56-9]

### Definisi

Homatropin hidrobromida adalah (1*R*,3*r*,5*S*)-8-metil-8-azabisiklo[3,2,1]okt-3-il(2*RS*)-2-hidroksi-2-fenilasetat hidrobromida.

Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau tidak berwarna.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, sukar larut dalam alkohol.

**Suhu lebur.** 215°C, dengan dekomposisi.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, C.

Identifikasi kedua: B, C.

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar homatropin hidrobromida.

B. Larutkan 50 mg dalam 1 ml air dan tambah asam asetat encer. Panaskan dan tambah 4 ml asam pikrat. Dinginkan, kocok dengan kuat. Ambil kristalnya, bilas 2 kali masing-masing 3 ml air es dan keringkan pada suhu 105°C. Suhu kristal 182°—186°C.

C. Memberikan reaksi bromida.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 1,25 g dalam air bebas karbondioksida sampai batas volume 25 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak berwarna.

**pH.** Larutan S 5,0—6,5.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50,0 mg zat uji dengan fase gerak sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 5,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 5,0 ml larutan dengan fase gerak sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5,0 ml larutan standar (a) dengan fase gerak sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan standar hiosin hidrobromida dalam fase gerak sampai batas volume 50,0 ml. Pada 10,0 ml larutan, tambah 0,5 larutan uji dan encerkan dengan fase gerak sampai volume 100,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 3 µm, ukuran 10 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai. Suhu 40°C.

**Fase gerak.** Campuran 33 volume metanol dan 67 volume larutan (larutkan 6,8 g kalium dihidrogen fosfat dan 7,0 natrium heptansulfonat monohidrat dalam 1000 ml air, atur pH 2,7 dengan asam fosfat (330 g/l)).

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 210 nm.

**Injek.** 10 µl.

**Waktu uji.** 3 kali waktu tambat homatropin.

**Waktu tambat relatif.** Standar homatropin sekitar 6,8 menit, ketidakhurnian C sekitar 0,2, ketidakhurnian A sekitar 0,9, ketidakhurnian B sekitar 1,1, ketidakhurnian D sekitar 1,9.

### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (c).** Resolusi tidak kurang dari 1,5 antara puncak homatropin dan ketidakhurnian B.

**Sistem simetri.** Tidak lebih dari 2,5 puncak homatropin.

### Batas

**Ketidakhurnian A.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,5%).

**Ketidakhurnian B, C, D.** Untuk setiap ketidakhurnian, tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,1%).

**Ketidakhurnian lain.** Untuk setiap ketidakhurnian, tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,1%).

**Total.** Tidak lebih dari 2 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (1%), abaikan puncak ion bromida yang muncul pada puncak pelarut.

**Abaikan batas.** 0,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.Gunakan 1 g.

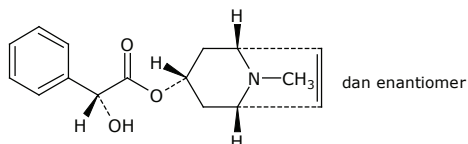
### Penetapan kadar

Larutkan 0,3 dalam campuran 5,0 ml asam hidroklorida 0,01 M dan 50 ml alkohol. Lakukan titrasi potensiometrik, gunakan natrium hidroksida 0,1 M. Catat volume titran antara 2 titik infleksi.

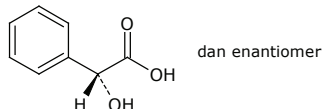
Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 35,63 mg dari  $C_{16}H_{22}BrNO_3$ .

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

**Ketidakmurnian**

- A. (1R,3S,5S)-8-metil-8-azabisiklo[3.2.1]okt-6-en-3-il(2RS)-2-hidroksi-2-fenilasetat (dehidrohomatropina).  
 B. Hiosina.



- C. Asam (2RS)-2-hidroksi-2-fenilasetat (asam mandelat).  
 D. Atropin.

**Khasiat**

Midriatik dan sikloplegik.

**Homatropin Tetes Mata****Definisi**

Homatropin tetes mata adalah larutan steril homatropin hidrobromida dalam air.

Tetes mata memenuhi syarat yang dinyatakan untuk sediaan tetes mata dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%  $C_{16}H_{21}NO_3 \cdot HBr$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

- A. Pada sediaan yang mengandung 60 mg homatropin tambah 3 ml amonia 5 M, kemudian ekstraksi dengan 15 ml kloroform, keringkan kloroform dengan natrium sulfat anhidrat, saring dan evaporasi hasil saringan hingga agak kering. Spektrum serapan inframerah dari residu sesuai dengan spektrum serapan standar homatropin.  
 B. Pada penetapan kadar, kromatogram yang diperoleh dari larutan (2) menunjukkan waktu tambat yang sama dengan puncak yang diperoleh dari kromatogram homatropin hidrobromida larutan (1).  
 C. Pada 1 ml tetes mata, encerkan dengan air sampai konsentrasi homatropin hidrobromida 1% b/v, tambah 1 ml amonia 5 M, kocok dengan kloroform, uapkan ekstrak kloroform sampai kering. Pada residu, tambah 1,5 ml larutan raksa (II) klorida 2% dalam etanol (60%). Terbentuk warna kuning dan menjadi merah segera setelah dipanaskan.  
 D. Menunjukkan reaksi A untuk bromida.

**Tropin.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G.

**Fase gerak.** Campuran 33 volume asam format anhidrat, 33 volume air dan 134 volume etil asetat.

**Totolkan.** 40  $\mu$ l pada lempeng secara terpisah dari setiap larutan.

**Larutan (1).** Gunakan sediaan yang telah diencerkan, jika perlu dengan air hingga didapat konsentrasi homatropin hidrobromida 1% b/v.

**Larutan (2).** Tropin 0,0050% b/v.

Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 100°—105°C, sampai pelarut terevaporasi secara sempurna. Dinginkan dan semprot dengan larutan kalium iodobismutat sampai bercak terlihat. Bercak lain yang berhubungan dengan tropin pada kromatogram yang diperoleh larutan (1), intensitasnya tidak boleh melebihi bercak yang dihasilkan larutan (2) (0,5%).

**Penetapan kadar**

Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Kolom.** Gelas dengan ukuran 1,5 m x 4 mm atau yang sesuai.

**Gas pembawa.** Nitrogen pada suhu 220°C.

**Detektor.** Flame-ionization detector (FID).

**Larutan (1).** 5 ml larutan standar homatropin bromida 0,4% b/v tambah 1 ml larutan standar atropin sulfat (standar internal) 2% b/v dalam metanol (larutan A) dan 1 ml amonia 5 M. Ekstraksi 2 kali dengan 5 ml kloroform. Cuci ekstrak dengan natrium sulfat anhidrat, saring. Uapkan hasil saringan sampai kering, larutkan residu dengan 10 ml diklorometan. Pada 1 ml larutan, tambah 0,2 ml campuran 4 volume N,O-bis (trimetilsilil)-asetamida dan 1 volume trimetilklorosilen, campur dan biarkan selama 30 menit.

**Larutan (2).** Sama dengan larutan (3) tanpa penambahan larutan A.

**Larutan (3).** Pada sediaan setara 20 mg homatropin hidrobromida, tambah 1 ml larutan A dan 1 ml amonia 5 M. Encerkan dengan 5 ml air bila diperlukan, ikuti prosedur (1) mulai "Ekstraksi 2 kali dengan 5 ml kloroform ....."

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup, kedap udara, steril dan dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Iodium**

*Iodine*

$I_2$

BM: 253,8

[7553-56-2]

**Definisi**

Iodium mengandung tidak kurang dari 99,5% dan tidak lebih dari 100,5% dari I.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Kristal violet keabuan dan mengkilat.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, larut dalam alkohol, sukar larut dalam gliserol, sangat mudah larut dalam larutan iodida pekat. Iodium menguap secara pelan-pelan pada suhu ruang.

**Identifikasi**

- A. Panaskan beberapa fragmen dalam tabung reaksi. Uap berupa violet dan terbentuk kristal hitam kebiruan yang menyublim.
- B. Pada larutan jenuh, tambah larutan kanji. Terbentuk warna biru. Panaskan sampai tidak berwarna. Dinginkan, warna muncul kembali.

**Larutan S.** Larutkan 3,0 g dengan 20 ml air, saring, bilas saringan dengan air dan encerkan hasil saringan dengan air sampai volume 30 ml. Pada larutan, tambah 1 g serbuk seng, larutan tidak berwarna, saring, bilas saringan dengan air dan encerkan hasil saringan dengan air sampai volume 40 ml.

**Brom dan klorida.** Pada 10 ml larutan, tambah 3 ml amoniak dan 6 ml larutan perak nitrat. Saring, bilas saringan dengan air dan encerkan hasil saringan dengan air sampai volume 20 ml. Pada 10 ml larutan, tambah 1,5 ml asam nitrat. Setelah 1 menit, opalesensi lain dalam larutan uji tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan standar [campuran 10,75 ml air, 0,25 ml asam klorida 0,01 M, 0,2 ml asam nitrat encer dan 0,3 ml perak nitrat (250 ppm)].

Zat tidak mudah menguap. Panaskan 1,0 g dalam porselin di atas penangas air sampai iodium menguap. Keringkan residu pada suhu 100°—105°C. Jumlah residu tidak lebih dari 1 mg (0,1%).

**Penetapan kadar**

Masukkan 0,2 g ke dalam botol (mengandung 1 g kalium iodida dan 2 ml air) dan tambah 1 ml asam asetat encer. Tambah 50 ml air dan titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 M, gunakan larutan kanji sebagai indikator.

Setiap ml natrium tiosulfat 0,1 M setara dengan 12,69 mg iodium.

**Khasiat**

Antiseptik dan antitiroid.

**Iodium Larutan Lugol's****Definisi**

Mengandung iodium 4,75% sampai 5,25% b/v dan kalium iodida 9,5 sampai 10,5% b/v. Dibuat dengan melarutkan 100 g kalium iodida dan 50 g iodium dalam 100 ml air suling.

**Identifikasi**

- A. Panaskan beberapa fragmen dalam tabung reaksi. Uap berupa violet dan terbentuk kristal hitam kebiruan yang menyublim.
- B. Pada larutan jenuh, tambah larutan kanji. Terbentuk warna biru. Panaskan sampai tidak berwarna.

Dinginkan, warna muncul kembali.

**Penetapan kadar**

**Iodium.** Pada 20 ml sediaan, tambah 10 ml air dan titrasi menggunakan natrium tiosulfat 0,1 M dengan larutan kanji sebagai indikator. Setiap ml natrium tiosulfat 0,1 M setara 12,69 mg iodium.

**Kalium iodida.** Pada 10 ml sediaan, tambah 20 ml air dan 40 ml asam klorida. Titrasi menggunakan kalium iodida 0,05 M sampai larutan berubah menjadi coklat pucat, tambah 1 ml larutan amaran dan lanjutkan titrasi sampai warna merah berubah menjadi kuning pucat. Jumlah ml kalium iodida 0,05 yang terpakai, substraksikan dengan seperempat jumlah ml natrium tiosulfat 0,1 M yang digunakan dalam penetapan iodium. Setiap ml iodium setara 16,60 mg KI.

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Iodium Tingtur Larutan****Definisi**

Mengandung iodium tidak kurang dari 1,8% dan tidak lebih dari 2,2% serta mengandung natrium iodida tidak kurang dari 2,1% dan tidak lebih dari 2,6%.

**Identifikasi**

Tambahkan 1 tetes pada campuran 1 ml larutan kanji dan 9 ml air terjadi warna biru tua.

Uapkan beberapa ml diatas penangas air hingga kering menunjukkan reaksi natrium dan iodium

**Kadar etanol.** Antara 44% sampai 50%.

**Penetapan kadar**

Sediaan setara 100 mg iodium, tambah 50 ml air, aduk, tambahkan 1 ml asam klorida 3 N. Titrasi menggunakan natrium tiosulfat 0,1 N dan larutan kanji sebagai indikator. Titik akhir dicapai bila warna larutan menjadi jernih. Setiap ml natrium tiosulfat 0,1 N setara 12,69 mg iodium.

**Penyimpanan**

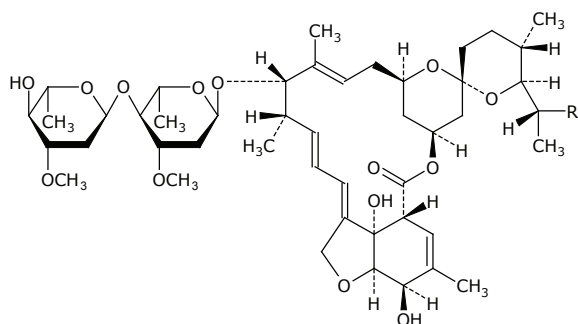
Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Ivermektin

*Ivermectin*



Componen	R	Rumus Molekul	M <sub>r</sub>
H <sub>2</sub> B <sub>1a</sub>	CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	C <sub>48</sub> H <sub>74</sub> O <sub>14</sub>	875
H <sub>2</sub> B <sub>1b</sub>	CH <sub>3</sub>	C <sub>47</sub> H <sub>72</sub> O <sub>14</sub>	861

[70161-11-4 (ivermektin B<sub>1a</sub>)]

[70209-81-3 (ivermektin B<sub>1b</sub>)]

### Definisi

Campuran dari (2aE,4E,5'S,6S,6'R,7S,8E,11R,13R,15S,17aR,20R,20aR,20bS)-7-[[2,6-dideoksi-4-O-(2,6-dideoksi-3-O-metil- $\alpha$ -L-arabino-heksopiranosil)-3-O-metil- $\alpha$ -L-arabino-heksopiranosil]oksi]-20,20b-dihidroksi-5',6,8,19-tetrametil-6'-[(1S)-1-metilpropil]-3',4',5',6,6',7,10,11,14,15,17a,20,20a,20b-tetradekahidrospiro[11,15-metano-2H,13H,17H-furo[4,3,2-pq][2,6]benzodioksasiklootadesen-13,2'-[2H]piran]-17-on (atau 5-O-demetil-22,23-dihidro-avermektin A<sub>1a</sub>) (komponen H<sub>2</sub>B<sub>1a</sub>) dan (2aE,4E,5'S,6S,6'R,7S,8E,11R,13R,15S,17aR,20R,20aR,20bS)-7-[[2,6-dideoksi-4-O-(2,6-dideoksi-3-O-metil- $\alpha$ -L-arabino-heksopiranosil)-3-O-methyl- $\alpha$ -L-arabino-heksopiranosil]oksi]-20,20b-dihidroksi-5',6,8,19-tetrametil-6'-(1-metiletil)-3',4',5',6,6',7,10,11,14,15,17a,20,20a,20b-tetradekahidrospiro[11,15-methano-2H,13H,17H-furo[4,3,2-pq][2,6]benzodioksasiklootadesen-13,2'-[2H]piran]-17-on (atau 5-O-demetil-25-de(1-metilpropil)-25-(1-metiletil)-22,23-dihidro-avermektin A<sub>1a</sub>) (komponen H<sub>2</sub>B<sub>1b</sub>).

Mengandung ivermektin (H<sub>2</sub>B<sub>1a</sub> + H<sub>2</sub>B<sub>1b</sub>) tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 102,0% dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

Perbandingan H<sub>2</sub>B<sub>1a</sub>/(H<sub>2</sub>B<sub>1a</sub> + H<sub>2</sub>B<sub>1b</sub>) (dengan kromatografi cair): minimal 90,0%.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kekuningan, sedikit higroskopis.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam metilen klorida, larut dalam alkohol.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar ivermektin.

B. Periksa kromatogram yang diperoleh pada penetapan kadar:

**Hasil.** Waktu tambat dan ukuran 2 puncak utama

pada kromatogram yang diperoleh larutan uji sama dengan 2 puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a).

**Kejernihan larutan.** Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warna dibanding dengan larutan standar BY<sub>7</sub>. Larutkan 1,0 g dalam 50 ml toluen.

**Rotasi jenis.** -17° sampai -20° dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat. Larutkan 0,250 g dalam metanol sampai 10,0 ml.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode untuk kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan ivermektin setara 40 mg, dengan metanol sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan standar ivermektin setara 40 mg, dengan metanol sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan (a) dengan metanol sampai volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 5,0 ml larutan (b) dengan metanol sampai volume 100,0 ml.

**Kolom.** ODS 1,5  $\mu$ m berukuran 25 cm  $\times$  4,6 mm, atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran air, metanol, asetonitril (15:34:51 v/v/v).

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 245 nm.

**Injeksi.** 20  $\mu$ l dari setiap larutan.

### Kesesuaian sistem

**Resolusi.** Minimum 3,0 antara puncak pertama (senyawa H<sub>2</sub>B<sub>1b</sub>) dan puncak kedua (senyawa H<sub>2</sub>B<sub>1a</sub>) pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a).

**Perbandingan puncak pengganggu.** Minimum 10 untuk puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c).

**Faktor simetri.** Maksimum 2,5 untuk puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a).

### Batas

**Ketidakhurnian dengan waktu tambat relatif 1,3—1,5 dengan standar terhadap puncak utama.** Tidak lebih dari 2,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (2,5%).

**Ketidakhurnian lain (bagian 2 puncak utama).** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1%).

**Total.** Tidak lebih dari 5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (5%).

**Abaikan batas.** Area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,05%).



**Etanol dan formamida.** Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan internal standar.** Encerkan 0,5 ml propanol dengan air sampai volume 100 ml.

**Larutan uji.** Larutkan 0,12 g zat uji dalam 2,0 ml m-xilen (bila perlu panaskan diatas penangas air pada suhu 40°–50°C). Tambah 2,0 ml air, aduk dan sentrifus. Keluarkan lapisan atas dan ekstraksi dengan 2,0 ml air. Buang lapisan atas dan gabungkan lapisan air. Tambah 1,0 ml larutan internal standar. Sentrifus dan buang lapisan m-xilen.

**Larutan standar (a).** Encerkan 3,0 g etanol dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 g formamid dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 5,0 ml larutan standar (a) dan 5,0 ml larutan standar (b) dengan air sampai batas volume 50,0 ml. Pindahkan 2,0 ml larutan, tambah 2,0 ml m-xilen, aduk dan sentrifus. Ambil lapisan atas dan ekstraksi dengan 2,0 ml. Buang lapisan atas dan gabungkan lapisan air. Tambah 1,0 ml larutan standar internal. Sentrifus dan buang m-xilen.

**Larutan standar (d).** Encerkan 10,0 ml larutan standar (a) dan 10,0 ml larutan standar (b) dengan air sampai batas volume 50,0 ml. Perlakukan seperti yang diuraikan untuk larutan standar (c) mulai dari "pindahkan 2,0 ml larutan..."

**Kolom.** Kapiler silika makrogol 20.000, ukuran 30 m x 0,53 mm, atau yang sesuai.

**Gas pembawa.** Helium.

**Laju alir.** 7,5 ml/min.

**Perbandingan split.** 1:10.

	Waktu (menit)	Suhu (°C)
Kolom	0—2	50 → 80
	2—8	80 → 240
Injektor	—	220
Detektor	—	280

**Detektor.** Flame ionization detector (FID).

**Injek.** 1 µl. Injek larutan uji dan larutan standar (c) dan (d).

**Batas**

**Etanol.** Tidak lebih dari 5,0%.

**Formamid.** Tidak lebih dari 3,0%.

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Pada 1,0 g, memenuhi uji batas. Siapkan 2 ml larutan standar timbal (10 ppm Pb).

**Air.** Tidak lebih dari 1,0%. Gunakan 0,50 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1 g.

**Penetapan kadar**

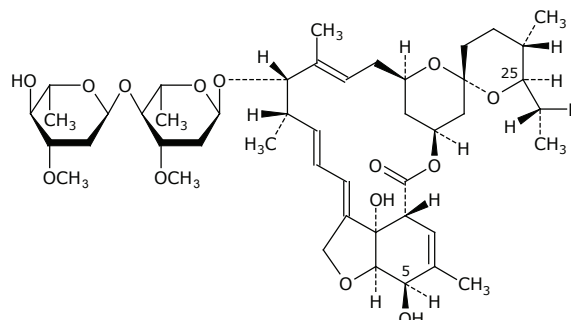
Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti tertera dalam uji senyawa sejenis.

**Injek.** 20 µl; larutan uji dan larutan standar (a).

**Penyimpanan**

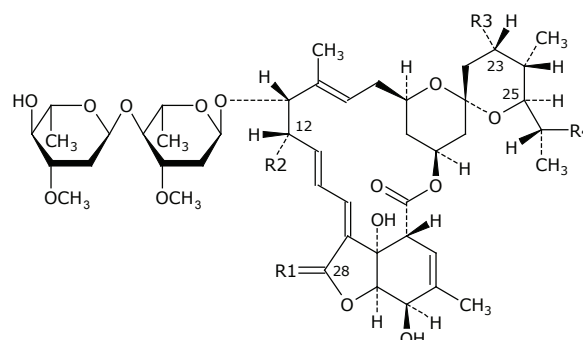
Kedap udara.

**Ketidakhurnian**



A. R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>: 5-O-demetilavermektin A<sub>1a</sub> (avermektin B<sub>1a</sub>).

B. R = CH<sub>3</sub>: 5-O-demetil-25-de(1-metilpropil)-25-(1-metiletil)avermektin A<sub>1a</sub> (avermektin B<sub>1b</sub>).

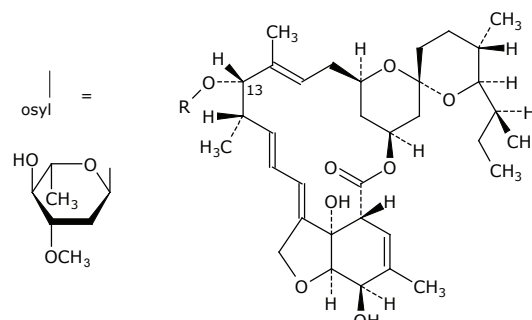


C. R<sub>1</sub> = H<sub>2</sub>, R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> = OH, R<sub>4</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>: (23S)-5-O-demetil-23-hidroksi-22,23-dihidroavermektin A<sub>1a</sub> (avermektin B<sub>2a</sub>).

D. R<sub>1</sub> = O, R<sub>2</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> = H, R<sub>4</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>: 5-O-demetil-28-okso-22,23-dihidroavermektin A<sub>1a</sub> (28-oksoH<sub>2</sub>B<sub>1a</sub>).

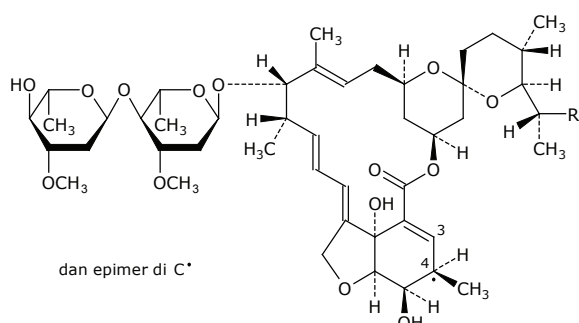
E. R<sub>1</sub> = H<sub>2</sub>, R<sub>2</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, R<sub>3</sub> = H, R<sub>4</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>: 5-O,12-didemetil-12-etil-22,23-dihidroavermektin A<sub>1a</sub> (12-demetil-12-etil-H<sub>2</sub>B<sub>1a</sub>).

F. R<sub>1</sub> = H<sub>2</sub>, R<sub>2</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, R<sub>3</sub> = H, R<sub>4</sub> = CH<sub>3</sub>: 5-O,12-didemetil-25-de(1-metilpropil)-12-etil-25-(1-metiletil)-22,23-dihidroavermektin A<sub>1a</sub> (12-demetil-12-etil-H<sub>2</sub>B<sub>1b</sub>).

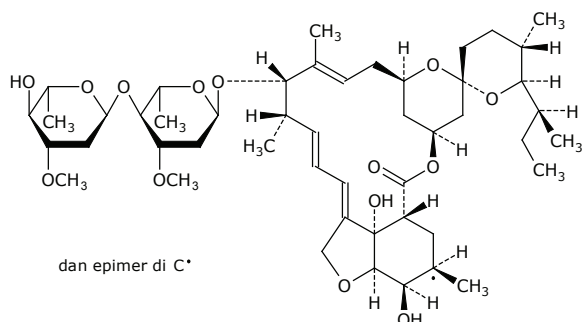


G. R = H: (6R,13S,25R)-5-O-demetil-28-deoksi-6,28-epoksi-13-hidroksi-25-[(1S)-1-metilpropil]milbemisin B (H<sub>2</sub>B<sub>1a</sub> aglikon).

H. R = osil: 4'-O-de(2,6-dideoksi-3-O-metil-α-L-arabino-heksopiranosil)-5-O-demetil-22,23-dihidroavermektin A<sub>1a</sub>.



- I. R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>: 2,3-didehidro-5-O-demetil-3,4,22,23-tetrahydroavermektin A<sub>1a</sub> (Δ<sup>2,3</sup> H<sub>2</sub>B<sub>1a</sub>).
- J. R = CH<sub>3</sub>: 2,3-didehidro-5-O-demetil-25-de(1-metilpropil)-25-(1-metiletil)-3,4,22,23-tetrahydroavermektin A<sub>1a</sub> (Δ<sup>2,3</sup> H<sub>2</sub>B<sub>1b</sub>).



- K. (4R) dan (4S)-5-O-demetil-3,4,22,23-tetrahydroavermektin A<sub>1a</sub> (isomer H<sub>4</sub>B<sub>1a</sub>).

### Khasiat

Obat cacing.

## Ivermektin Injeksi

### Definisi

Ivermektin injeksi adalah larutan steril ivermektin dalam pembawa yang sesuai dan tidak mengandung air.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung perjumlahan dari komponen H<sub>2</sub>B<sub>1a</sub> (C<sub>48</sub>H<sub>74</sub>O<sub>14</sub>) dan komponen H<sub>2</sub>B<sub>1b</sub> (C<sub>47</sub>H<sub>72</sub>O<sub>14</sub>) tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110%. Perbandingan kadar dari H<sub>2</sub>B<sub>1a</sub> dengan (H<sub>2</sub>B<sub>1a</sub> + H<sub>2</sub>B<sub>1b</sub>) sedikitnya 90%.

### Identifikasi

- A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika 60 F<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 1 volume amonia pekat, 9 volume metanol dan 90 volume diklorometan.

**Larutan (1).** Sediaan ivermektin 0,05% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Standar ivermektin 0,05% b/v dalam metanol.

Totolkan secara terpisah 2 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng, biarkan kering di udara. Periksa

di bawah cahaya ultraviolet (254 nm dan 366 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) adalah serupa pada tempat, warna dan ukuran dengan yang diperoleh dengan larutan (2).

- B. Pada penetapan kadar, kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) menunjukkan dua puncak utama dengan waktu t<sub>tambat</sub> serupa dengan dua puncak utama yang peroleh dengan larutan (2).

**Kejernihan dan warna larutan.** Sediaan injeksi jernih, dan tidak lebih kuat dibandingkan larutan standar Y<sub>4</sub>.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode untuk kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan ivermektin setara 40 mg, dengan metanol sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan standar ivermektin setara 40 mg, dengan metanol sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan (a) dengan metanol sampai volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 5,0 ml larutan (b) dengan metanol sampai volume 100,0 ml.

**Kolom.** ODS 1, 5 µm berukuran 25 cm × 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran air, metanol, asetonitril (15:34:51 v/v/v).

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 245 nm.

**Injeksi.** 20 µl dari setiap larutan.

### Kesesuaian sistem

**Resolusi.** Minimum 3,0 antara puncak pertama (senyawa H<sub>2</sub>B<sub>1b</sub>) dan puncak kedua (senyawa H<sub>2</sub>B<sub>1a</sub>) pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a).

**Perbandingan puncak pengganggu.** Minimum 10 untuk puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c).

**Faktor simetri.** Maksimum 2,5 untuk puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a).

### Batas

**Ketidakhurnian dengan waktu tambat relatif 1,3—1,5 dengan standar terhadap puncak utama.** Tidak lebih dari 2,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (2,5%).

**Ketidakhurnian lain (bagian 2 puncak utama).** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1%).

**Total.** Tidak lebih dari 5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (5%).

**Abaikan batas.** Area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,05%).

**Penetapan kadar**

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Sediaan ivermektin 0,04% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Standar ivermektin 0,04% b/v dalam metanol.

**Injeksi.** 20 µl dari setiap larutan.

**Kolom.** ODS 1, 5 µm berukuran 25 cm × 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 39 volume air, 55 volume metanol dan 106 volume asetonitril.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 245 nm.

Hitung kadar ivermektin ( $H_{2B_{1a}} + H_{2B_{1b}}$ ) dalam injeksi dan perbandingan  $H_{2B_{1a}} / (H_{2B_{1a}} + H_{2B_{1b}})$  menggunakan kadar yang dinyatakan dalam standar ivermektin  $C_{48}H_{74}O_{14}$  ( $H_{2B_{1a}}$ ) dan  $C_{47}H_{74}O_{14}$  ( $H_{2B_{1b}}$ ).

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Ivermektin Pasta****Definisi**

Ivermektin pasta berisi ivermektin dalam satu pembawa yang sesuai untuk pemberian oral.

Pasta memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan pasta dan persyaratan berikut.

Mengandung perjumlahan dari komponen  $H_{2B_{1a}}$  ( $C_{48}H_{74}O_{14}$ ) dan komponen  $H_{2B_{1b}}$  ( $C_{47}H_{72}O_{14}$ ) tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%. Perbandingan kadar dari  $H_{2B_{1a}}$  dengan ( $H_{2B_{1a}} + H_{2B_{1b}}$ ) sedikitnya 90,0%.

**Identifikasi**

Lakukan seperti yang tertera dalam ivermektin injeksi.

**Zat yang berhubungan.** Lakukan seperti yang tertera dalam ivermektin injeksi.

**Penetapan kadar**

Lakukan seperti yang tertera dalam ivermektin injeksi.

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Ivermektin Pour-on****Definisi**

Ivermektin *pour-on* adalah larutan *pour-on* yang mengandung ivermektin dalam pembawa yang sesuai.

*Pour-on* memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam sediaan cair untuk pemakaian pada sediaan kulit dan persyaratan berikut.

Kandungan ivermektin dihitung dari jumlah komponen  $H_{2B_{1a}}$  ( $C_{48}H_{74}O_{14}$ ) dan komponen  $H_{2B_{1b}}$  ( $C_{47}H_{72}O_{14}$ ), tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110%. Perbandingan kadar dari  $H_{2B_{1a}}$  dengan ( $H_{2B_{1a}} + H_{2B_{1b}}$ ) sedikitnya 90%.

**Identifikasi**

Lakukan seperti yang tertera dalam ivermektin injeksi.

**Senyawa sejenis.** Lakukan seperti yang tertera dalam ivermektin injeksi.

**Penetapan kadar**

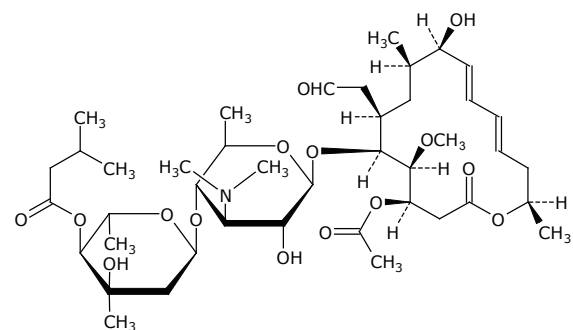
Lakukan seperti yang tertera dalam ivermektin injeksi.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Josamisin**

*Josamycin*



$C_{42}H_{69}NO_{15}$

BM: 828,0

[16846-24-5]

**Definisi**

Josamisin adalah antibiotik makrolid yang diproduksi oleh *Streptomyces narbonensis* var. *josamyceticus* var. *nova*, atau yang sesuai. Komponen utama (4R, 5S, 6S, 7R, 9R, 10R, 11E, 13E, 16R)-4-(asetiloksi)-6-[[3,6-dideoksi-4-O-[2,6-dideoksi-3-C-metil-4-O-(3-metilbutanoil)- $\alpha$ -L-ribo-heksopiranosil]-3-(dimetilaminito)- $\beta$ -D-glukopiranosiloksi]-10-hidroksi-5-metoksi-9,16-dimetil-7-(2-oksoetil) oksasikloheksadeka-11,13-dien-2-on.

Mengandung minimum 900 U/mg dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk putih atau sedikit kuning, sedikit higroskopik.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, mudah larut dalam metanol dan metilen klorida, larut dalam aseton.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: B, C.

A. Larutkan dan encerkan 0,10 g dalam metanol sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan metanol sampai batas volume 50,0 ml. Ukur pada panjang gelombang 220 nm dan 350 nm, larutan menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 232 nm. Serapan spesifik maksimum adalah 330—370.

B. Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji senyawa sejenis.

**Hasil.** Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama pada tempat, warna dan ukuran bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a) dan berbeda pada tempat dari bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (d) dan (e).

C. Larutkan 10 mg dalam 5 ml asam hidroklorida dan diamkan selama 10—20 menit. Terbentuk warna coklat.

**Kejernihan larutan.** Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar BY<sub>4</sub>. Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Rotasi jenis.** -65° sampai -75° (zat kering). Larutkan R dan encerkan 1,0 g dalam metanol sampai batas volume 100,0 ml. diamkan selama 30 menit sebelum diukur.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 0,1 g standar josamisin dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1 ml larutan standar (a) dengan metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 1 ml larutan standar (a) dengan metanol sampai 20 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan dan encerkan 0,1 g standar josamisin propionat dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (e).** Larutkan dan encerkan 0,1 g standar spiramisin dalam metilen klorida sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (f).** Larutkan 10 mg standar josamisin dan 10 mg standar josamisin propionat dalam 1 ml metanol.

**Lempeng.** Silika gel G.

**Fase gerak.** Metanol, aseton, etil asetat, toluen, heksan (8:10:20:25:30 v/v/v/v/v).

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 100°C selama 10 menit. Semprot dengan asam sulfat

encer dan panaskan pada suhu 100°C selama 10 menit.

**Kesesuaian sistem.** Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (f) menunjukkan 2 bercak utama yang terpisah.

### Batas

**Ketidakh murnian lain.** Bercak lain, selain bercak utama, tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (10%) dan tidak lebih dari 1 bercak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (c) (5%).

**Logam berat.** Tidak lebih dari 30 ppm. 1,0 g memenuhi uji batas C. Gunakan 3 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0%. Pada pengeringan dengan suhu 60°C secara vakum sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,2%. Gunakan 1,0 g.

### Penetapan potensi

Larutkan 30,0 mg dalam 5 ml metanol dan encerkan dengan air sampai volume 100,0 ml.

Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

### Penyimpanan

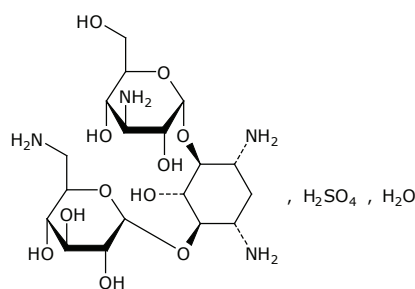
Kedap udara.

### Khasiat

Antibiotik.

## Kanamisin Sulfat

*Kanamycin Sulphate*



C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>11</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O      BM: 601      [25389-94-0]

### Definisi

Kanamisin sulfat adalah 6-O-(3-amenito-3-deoksi-D-glukopiranosil)-4-O-(6-amenito-6-deoksi-D-glukopiranosil)-2-deoksi-D-streptamina sulfat, zat antimikroba diproduksi oleh pertumbuhan *Streptomyces kanamyceticus*. Potensi tidak kurang dari 750 IU/mg, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

Toksitas abnormal. Injek 0,5 ml larutan mengandung 2 mg/ml zat uji untuk setiap tikus.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Larut dalam 8 bagian air, praktis tidak larut dalam aseton dan alkohol.

### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel H atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 10 mg zat uji dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar kanamisin sulfat dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar kanamisin sulfat, 10 mg standar neomisin sulfat dan 10 mg standar streptomisin sulfat dengan air sampai volume 10 ml.

**Fase gerak.** Kalium dihidrogen fosfat (70 g/l).

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan campuran dihidroksinaftalen (2 g/l) dalam alkohol dan asam sulfat (460 g/l) dengan volume yang sama. Panaskan pada suhu 150°C selama 5—10 menit. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama pada tempat, warna dan ukuran bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a). Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan tiga bercak yang terpisah.

B. Larutkan 0,5 g dalam 10 ml air. Tambahkan 10 ml asam pikrat. Terbentuk kristal, jika perlu ambil kristal yang menempel dalam tabung. Kumpulkan kristal, bilas dengan 20 ml air dan saring. Keringkan pada suhu 100°C. Kristal meleleh pada suhu 235°C, dengan dekomposisi.

C. Larutkan 50 mg dalam 2 ml air. Tambahkan 1 ml ninhidrin (10 g/l) dan panaskan beberapa menit di atas penangas air. Terbentuk warna violet.

D. Memberikan reaksi sulfat.

**Larutan S.** Larutkan 0,2 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 20,0 ml.

**pH.** Larutan S adalah 6,5—8,5.

**Rotasi jenis.** +112° sampai +123°. Gunakan larutan S dan dihitung terhadap zat kering.

**Kanamisin B.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel H atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 10 mg zat uji dengan air sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar kanamisin sulfat dengan air sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar kanamisin sulfat, 10 mg standar neomisin sulfat dan 10 mg standar streptomisin sulfat dengan air sampai volume 10 ml.

**Fase gerak.** Kalium dihidrogen fosfat (70 g/l).

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan ninhidrin dan timah (II) klorida. Panaskan lempeng pada suhu 110°C selama 15 menit. Bercak lain kanamisin B pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji tidak lebih kuat intensitas cahaya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,5%. Pada pengeringan dengan suhu 60°C secara vakum sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,5%.Gunakan 1 g.

**Sulfat.** 15,0—17,0% dihitung dengan standar terhadap zat kering. Larutkan 0,25 g dalam 100 ml air dan atur pH 11 dengan amoniak pekat. Tambah 10,0 ml barium klorida 0,1 M dan 0,5 mg ungu ftalein. Titrasi dengan natrium edetat 0,1 M, tambah 50 ml alkohol ketika warna larutan mulai berubah dan lanjutkan titrasi sampai warna biru-violet hilang.

Setiap ml barium klorida 0,1 M setara dengan 9,606 mg sulfat (SO<sub>4</sub>).

**Pirogen.** Injek 1 ml larutan dalam air mengandung 10 mg/ml zat uji untuk setiap kilogram dari berat kelinci.

### Penetapan potensi

Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Khasiat

Antibiotik.

## Kaolin

*Kaolin*

### Definisi

Kaolin (*light*) adalah aluminium silikat hidrat, bebas dari ketidakmurnian dengan elutriasi dan pengeringan. Mengandung pembawa yang sesuai.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih, bebas dari partikel.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air dan asam mineral.

### Identifikasi

A. Pada 0,5 g kaolin tambah 1 g of kalium nitrat dan 3 g natrium karbonat, panaskan sampai meleleh. Biarkan dingin. Pada residu, tambah 20 ml air mendidih, aduk dan saring. Bilas residu dengan 50 ml air, tambah pada residu 1 ml asam hidroklorida dan 5 ml air, aduk dan saring. Kedalam hasil saringan tambah 1 ml natrium hidoksida pekat, saring dan tambah kedalam hasil saringan 3 ml amonium klorida. Terbentuk endapan gelatin.

- B. Pada sediaan setara 0,25 g, memberikan reaksi silikat.
- C. Pada sediaan setara 2 g tambah 2 ml air. Dihasilkan campuran yang mengalir

#### Partikel kasar

Pindahkan 5 g kedalam bejana bersumbat, tambah 60 ml natrium pirofosfat 1% b/v, aduk dan biarkan selama 5 menit. Gunakan pipet, ambil 50 ml (mulai 5 cm dibawah permukaan). Pada sisa cairan, tambah 50 ml air, aduk, biarkan selama 5 menit dan ambilkan kembali 50 ml dengan prosedur yang sama. Ulangi proses tersebut sampai total volume 400 ml. Pindahkan sisa cairan dan uapkan sampai kering diatas penangas air. Residu setelah pengeringan pada suhu 105°C, kehilangan berat tidak lebih 25 mg.

#### Partikel halus

Dispersikan 5 g zat uji dalam 250 ml air, aduk selama 2 menit, Tuangkan segera ke dalam gelas silinder (diameter 5 cm ) dan pindahkan 20 ml ke cawan gelas. Uapkan sampai mendekati dan keringkan hingga berat tetap pada suhu 105°C. Biarkan sisa suspensi selama 4 jam pada suhu 20°C dan ambil 20 ml kedua (mulai 5 cm dibawah permukaan), hindarkan sediment terganggu. Pindahkan 20 ml ke cawan gelas ke dua, uapkan sampai mendekati kering dan keringkan hingga berat tetap pada suhu 105°C. Residu dari bagian kedua tidak lebih daei 70% dari berat residu dari bagian pertama.

**Arsen.** Dispersikan 0,50 g dalam 25 ml air. Memenuhi uji batas arsen (2 ppm).

**Logam berat.** Panaskan 6,0 g dalam campuran 70 ml air dan 10 ml asam hidroklorida selama 15 menit dengan refluks kondensor diatas penangas air kemudian saring. Pada 40 ml hasil saringan, tambah 0,5 ml asam nitrat dan uapkan sampai sedikit. Tambah 20 ml air, 2 g amonium klorida dan 2 g amonium tiosianat. Ekstraksi dua kali, masing-masing 10 ml campuran dengan volume yang sama dari isoamol alkohol dan eter. Pada lapisan air, tambah 2 g asam sitrat dan air sampai batas volume 60 ml. Pada 12 ml larutan memenuhi uji batas logam berat. Gunakan larutan standar timbal (1 ppm Pb).

**Klorida.** Didihkan 1,0 g dengan 80 ml air dan 20 ml asam nitrat 2M dalam refluks kondensor selama 5 menit, dinginkan dan saring. Pada 15 ml hasil saringan memenuhi uji batas klorida (330 ppm).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C. Gunakan 1 g.

**Susut pemijaran.** Tidak lebih dari 1,0% pada pemijaran dengan suhu 600°C. Gunakan 1 g.

**Zat larut.** Didihkan 2 g dengan 100 asam hidroklorida 0,2M dalam refluks kondensor selama 5 menit, dinginkan, saring dan uapkan 50 ml hasil saringan sampai mendekati kering. Residu setelah pemijaran dengan suhu 600°C selama 30 menit, kehilangan berat tidak lebih dari 10 mg.

#### Khasiat

Antidiare.

## Kaolin Suspensi Oral

### Definisi

Kaolin suspensi oral adalah suspensi yang mengandung light kaolin atau light kaolin (alami) 20% b/v dan light magnesium karbonat dan natrium bikarbonat masing masing 5% b/v dalam pembawa yang sesuai. Harus dibuat segar, kecuali jika kaolin telah disterilisasi sebelumnya.

### Sediaan

Kaolin ringan atau light kaolin	200 g
Light magnesium karbonat	50 g
Natrium bikarbonat	50 g
Air secukupnya sampai	1000 ml

Suspensi oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam sediaan cair oral dan persyaratan berikut.

Mengandung magnesium, Mg 1,04—1,25% b/b dan natrium bikarbonat, NaHCO<sub>3</sub> 4,05—4,65% b/b.

**Zat tidak larut asam.** 13,8—18,4% b/b, ditentukan dengan metode berikut. Pada 3 g tambah 15 ml air dan buat asam terhadap kertas litmus biru dengan penambahan secara berhati-hati dari asam hidroklorida 2M. Didihkan selama 5 menit, dinginkan dan tuang lapisan supernatan melalui kertas saring yang sesuai. Didihkan residu dalam 20 ml air dan 10 ml asam hidroklorida 2M, dinginkan dan saring dengan kertas saring yang sama. Bilas residu dengan air sampai air bilasan bebas dari klorida. Simpan hasil saringan dan air bilasan untuk penetapan kadar magnesium Mg. Keringkan dan pijarkan residu sampai bobot tetap.

### Penetapan kadar

**Magnesium.** Encerkan hasil saringan yang didapat dalam uji zat tidak larut asam sampai batas volume 100 ml dengan air. Pada 20 ml larutan, tambahkan 0,1 g L-asam askorbat, buat sedikit alkali terhadap kertas litmus merah dengan amonia 5 M dan tambah 10 ml trietanolamin, 10 ml dapar amonia pH 10,9 dan 1 ml larutan kalium sianida. Titrasi dengan dinatrium edetat 0,05 M sebagai indikator gunakan mordan hitam sampai terbentuk warna biru. Setiap ml dinatrium edetat 0,05 M setara dengan 1,215 mg Mg.

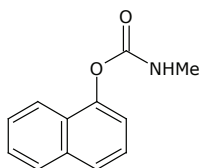
**Natrium bikarbonat.** Didihkan 10 g dengan 100 ml air selama 5 menit dan saring. Didihkan residu dengan 100 ml air selama 5 menit dan saring. Dinginkan campuran hasil saringan dan titrasi dengan asam hidroklorida 0,5M menggunakan *metil jingga-xilen sianol* sebagai indikator. Tambah 10 ml dapar amonia pH 10,9 dan titrasi dengan 0,05 M dinatrium edetat menggunakan mordan hitam sebagai indikator. Setiap ml asam hidroklorid setara dengan 42,00 mg NaHCO<sub>3</sub>.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Karbaril

*Carbaryl*

C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>

BM: 201,2

[63-25-2]

### Definisi

Karbaril adalah 1-naftil metilkarbamat.

Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% dari C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau abu-abu akan gelap bila terpapar cahaya. Suhu lebur sekitar 142°C.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, larut dalam aseton dan etanol (96%)

### Identifikasi

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar karbaril.

**1-Naftol.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti untuk penetapan kadar, menggunakan:

**Larutan (1).** Zat uji 0,1% b/v dalam asetonitril.

**Larutan (2).** 1-naftol 0,001% b/v dalam asetonitril (75% v/v dalam air).

**Larutan (3).** Zat uji 0,005% b/v dan 1-naftol 0,005% b/v dalam fase gerak.

Uji tidak absah, kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3), faktor resolusi antara 2 puncak utama adalah 2,0. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1), area puncak 1-naftol tidak lebih besar dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (1%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%, gunakan 1,0 g dengan pemanasan diatas fosfor pentoksida dengan tekanan 0,7 kPa.

### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Zat uji 0,005% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Standar karbaril 0,005% b/v dalam metanol.

**Larutan (3).** Zat uji 0,005% b/v dan 1-naftol 0,005% b/v dalam fase gerak.

**Kolom.** Spherisorb ODS-2, 5 µm, ukuran 10 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 1 volume asam asetat glasial, 25 volume asetonitril dan 75 volume air.

**Kecepatan alir.** 2,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

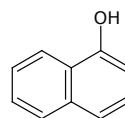
**Injek.** 20 µl dari setiap larutan.

Uji tidak abash, kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3), faktor resolusi antara 2 puncak utama adalah 2,0.

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Ketidakhurnian



1-Naftol.

### Khasiat

Insektisida.

## Katecu

*Catechu*

### Definisi

Katecu adalah ekstrak kering yang disiapkan dari daun-daun dan biji muda dari *Uncaria gambier (hunter) Roxb.*

### Karakteristik

**Pemerian.** Tidak berbau atau hampir tidak berbau.

**Makroskopik.** Katecu biasanya berbentuk kubus, yang kadang-kadang terdiri dari aglutinat atau campuran fragmen-fragmen dari pecahan kubus.

Kubus biasanya rapuh dan berpori-pori dengan ukuran sekitar 2,5 cm pada setiap arah; kubus yang besar sampai 4 cm panjangnya seperti batu bata, yang kadang-kadang pecah.

Bagian luar berwarna pudar atau coklat pucat sampai merah gelap, bagian dalam berwarna coklat pucat.

**Mikroskopik.** Masa atau kristal catechin coklat sampai kekuning-kuningan, dapat larut dalam air panas.

Jumlah fragmen bervariasi, terdiri dari daun-daun dan bunga yang meliputi: *unicellular trichomes* dengan ukuran panjang 250—540 µm dan dinding lignin, berbintik bintik di dasar, beberapa dengan septa satu atau dua garis melintang tipis; yang lebih kecil *trichomes*-nya berukuran panjang, 25 untuk 45 µm, berbentuk kerucut, dinding tidak berlignin, sel-sel epidermal tipis dan suatu cuticle halus dan paracytic stomata, di bagian bawah, segmen mahkota bunga coklat yang kemerah-merahan yang ditutup oleh *trichomes* dan dengan bintik bintik serta berlignin *cicatrices* dalam epidermis.

Sel-sel *parenchymatous* berisi kalsium oksalat sebagai kristal keluarga dan pasir kristal; butir tepung sari *subspherical* berdiameter 11 untuk 18 µm dengan tiga pori-pori, tiga kerut dan berbintik bintik; kadang berbentuk fragmen seperti gabus.

**Identifikasi**

Pada 0,3 g tambag 2 ml etanol (96%), hangatkan, dinginkan dan saring. Pada hasil saringan tambah 2 ml natrium hidroksida 5M, aduk dan tambah 2 ml petroleum benzin (titik didih 40°–60°C), aduk dan biarkan memisah. Terbentuk warna *brilian* fluoresensi kehijau-hijauan pada lapisan atas.

**Zat tidak larut dalam etanol (96%).** Tidak lebih dari 34,0%, dihitung terhadap zat yang dikeringkan, yang ditentukan dengan cara: Rendam 5 g serbuk kasar dengan 100 ml etanol (96%), biarkan selama 6 jam sambil diaduk, biarkan selama 18 jam. Saring, bilas residu dengan etanol (96%) dan keringkan pada suhu 100°C.

**Kanji.** Residu yang diperoleh dalam uji zat tidak larut dalam etanol (96%), tidak lebih dari satu granul.

**Zat tidak larut dalam air.** Tidak lebih dari 33,0%, dihitung terhadap zat kering, yang ditentukan dengan cara untuk zat tidak larut dalam etanol (96%), tetapi menggunakan air sebagai pengganti etanol (96%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 15,0% pada pengeringan dengan suhu 105°C. Gunakan 1 g.

**Abu.** Tidak lebih dari 8,0%.

**Khasiat**

Astringen. Berhubungan dengan usus.

**Katecu Tingtur****Definisi**

*Catechu Crushed* 200 g, *Cinnamon Bruised* 50 g dalam 1000 ml etanol (45%).

**Pembuatan sediaan.** Siapkan dengan maserasi.

Tingtur memenuhi persyaratan untuk tingtur dalam ekstrak dan memenuhi persyaratan berikut.

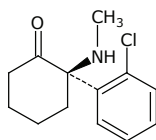
**Kandungan etanol.** Mengandung etanol 36–40% v/v.

**Residu kering.** 12–17% b/v.

**Kerapatan relatif.** 0,990–1,010.

**Ketamin Hidroklorida**

*Ketamine Hydrochloride*



dan enantiomer , HCl

$C_{13}H_{16}ClNO$ , HCl

BM: 274,2

[1867-86-9]

**Definisi**

Ketamin hidroklorida adalah (RS)-2-(2-klorofenil)-2-(metilamino) sikloheksanon hidroklorida.

Mengandung tidak kurang 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air dan metanol, larut dalam etanol (96%).

**Suhu lebur.** 260°C, dengan dekomposisi.

**Identifikasi**

A. Rotasi jenis.

B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar ketamin hidroklorida.

C. Memberikan reaksi klorida.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 5,0 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 25,0 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S adalah jernih dan tidak berwarna.

**pH.** 3,5–4,1. Encerkan 10 ml larutan S sampai batas volume 20 ml dengan air bebas karbon dioksida.

**Rotasi jenis.** Encerkan 2,5 ml larutan S sampai batas volume 25 ml dengan air. Rotasi jenis adalah  $-0,2^\circ$  sampai  $+0,2^\circ$ .

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan cara kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50,0 mg zat uji dengan fase gerak sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 25,0 mg standar ketamin ketidakhurnian A dengan fase gerak sampai batas volume 50,0 ml. Pada 1,0 ml larutan, tambah 0,5 ml larutan uji dan encerkan dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 10,0 ml. Pada 1,0 ml larutan dan encerkan dengan fase gerak sampai volume 20,0 ml.

**Pra-kolom.** Oktadesilsilil, 4 cm x 4,0 mm.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5  $\mu$ m, 12,5 cm x 4,0 mm.

**Fase gerak.** Larutkan 0,95 g natrium heksanesulfonat dalam 1 liter campuran 25 volume asetonitril, 75 volume air dan 4 ml asam asetat.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 215 nm.

**Injek.** 20  $\mu$ l.

**Waktu uji.** 10 kali waktu tambat ketamin.

**Kesesuaian sistem larutan standar (a).** Waktu tambat ketamin 3–4,5 menit, resolusi minimum 1,5 antara puncak ketidakhurnian A dan ketamin.

**Batas**

**Total.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

**Abaikan batas.** 0,2 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,1%).



**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Encerkan 10 ml larutan S dengan air sampai volume 20 ml. Pada 12 ml larutan memenuhi uji batas. Siapkan larutan standar timbal (2 ppm Pb).

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%, gunakan 1,0 g.

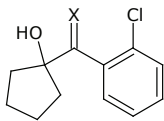
#### Penetapan kadar

Larutkan 0,2 g dalam 50 ml metanol dan tambah 1,0 ml asam hidroklorida 0,1 M. Titrasi secara potensiometrik, menggunakan natrium hidroksida 0,1 M. Baca volume yang ditambahkan antara 2 titik infleksi. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 27,42 mg  $C_{13}H_{17}C_{12}NO$ .

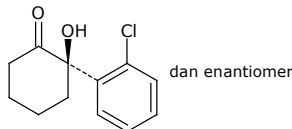
#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakhurnian



- A. X = N-CH<sub>3</sub>: 1-[(2-klorofenil)(metilimino)metil]siklopentanol.  
 C. X = O: (2-klorofenil)(1-hidroksisiklopentil) metanon.



- B. (2R)-2-(2-klorofenil)-2-hidroksisiklo heksanon.

#### Khasiat

Obat bius.

## Ketamin Injeksi

#### Definisi

Ketamin injeksi adalah larutan steril dari ketamin hidroklorida dalam air untuk injeksi.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung ketamin hidroklorida,  $C_{13}H_{16}C_1NO$ , HCl tidak kurang dari 95% dan tidak lebih dari 105% dari jumlah yang tertera dalam etiket.

#### Identifikasi

- A. Larutkan sediaan sampai mengandung ketamin hidroklorida 0,08% b/v dalam campuran 1 volume natrium hidroksida 1 M dan 49 volume metanol. Serapan cahaya, pada 230—350 nm menunjukkan maksimum pada 301 nm dan bahu pada 274, 268 dan 261 nm.  
 B. Encerkan sediaan sampai ketamin hidroklorida 0,029% b/v dengan asam hidroklorida 0,1 M. Serapan cahaya, pada 230—350 nm menunjukkan maksimum pada 276 nm dan 269 nm serta bahu pada 260 nm.

**Keasaman.** pH 3,5—5,5.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Encerkan sediaan sampai ketamin hidroklorida 0,012% b/v, dengan fase gerak.

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan (1) sampai 200 volume dengan fase gerak.

**Larutan (3).** Encerkan 1 volume larutan (2) sampai 2 volume dengan fase gerak.

**Larutan (4).** Tambah 2 volume larutan standar ketidakhurnian ketamin A 0,05% b/v dalam fase gerak, 1 volume larutan (1) dan encerkan dengan fase gerak sampai 100 volume.

**Kolom.** Lichrosorb RP18 5 $\mu$ m, ukuran 12,5 cm  $\times$  4,0 mm atau yang sesuai.

**Pra-kolom.** Lichrosorb RP18, 4 mm  $\times$  4,0 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Tambahkan 0,95 g natrium heksansulfonat dalam 1 L campuran 25 volume asetonitril, 75 volume air dan 4 ml asam asetat 6 M.

**Laju alir.** 1,0 ml per menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 215 nm.

Injek larutan (4), waktu tambat ketamin sekitar 3—4,5 menit. Uji tidak absah kecuali jika faktor resolusi antara ketidakhurnian ketamin A dan ketamin adalah 1,5. Jika diperlukan, lakukan penyesuaian konsentrasi dari air dan asetonitril pada fase gerak. Injek larutan (1), (2) dan (3). Lanjutkan kromatografi sampai 10 kali waktu tambat ketamin. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) area puncak kedua tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (0,5%) dan area tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) (0,25%). Abaikan puncak dengan area kurang dari 0,4 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) (0,1%).

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan: Pada sediaan setara 25 mg ketamin hidroklorida larutkan dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,05 M sampai batas volume 100 ml dan aduk. Ukur serapan pada panjang gelombang 269 nm. Ukur serapan larutan standar ketamin hidroklorida 0,025% b/v dalam asam hidroklorida 0,05 M.

#### Penyimpanan

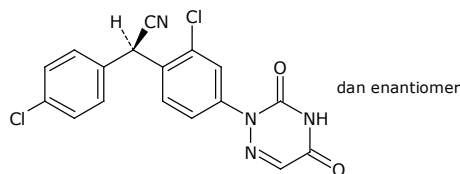
Ketamin injeksi harus dilindungi dari cahaya dan simpan pada suhu tidak melebihi 30°C.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Klazuril

Clazuril

C<sub>17</sub>H<sub>10</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>

BM: 373,2

[101831-36-1]

### Definisi

Klazuril adalah (2RS)-[2-kloro-4-(3,5-diokso-4,5-dihidro-1,2,4-triazin-2(3H)-il)fenil](fenil 4-kloro) asetonitril. Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau kuning terang.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam dimetilformamid, sukar larut dalam alkohol dan metilen klorida.

### Identifikasi

A. Suhu lebur: 199°—203°C.

B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar klazuril.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 20,0 mg zat uji dalam campuran tetrahidrofuran dan air dengan volume yang sama sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 5 mg standar klazuril untuk kesesuaian sistem dalam campuran tetrahidrofuran dan air dengan volume yang sama sampai volume 5,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dalam campuran tetrahidrofuran dan air dengan volume yang sama sampai batas volume 100,0 ml. Pada 2,0 ml, encerkan dalam campuran tetrahidrofuran dan air dengan volume yang sama sampai volume 10,0 ml.

**Kolom.** ODS, 3 µm, ukuran 0,10 m x 4,6 mm, suhu 35°C.

**Fase gerak A.** Campuran 100 volume amonium asetat (7,7 g/l, atur pH 6,2 dengan asam format anhidrat 10% v/v), 150 volume asetonitril dan 750 volume air.

**Fase gerak B.** Campuran 100 volume amonium asetat (7,7 g/l, atur pH 6,2 dengan asam format 10% v/v), 850 volume asetonitril dan 50 volume air.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0—20	100 → 0	0 → 100
20—25	0	100
25—30	0 → 100	100 → 0
30—40	100	0

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 230 nm.

**Injek.** 5 µl.

### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (a).** Perbandingan puncak dan dasar minimum 1,5.

H<sub>p</sub> = Ketinggian puncak di atas garis dasar yang berhubungan dengan ketidakmurnian G.

H<sub>v</sub> = Ketinggian di atas garis dasar dari titik paling rendah dari klazuril, pada kromatogram yang diperoleh adalah sesuai dengan kromatogram klazuril untuk kesesuaian standar klazuril.

### Batas

**Faktor-koreksi.** Perhitungan dari isi, yaitu dengan mengalikan area puncak dari ketidakmurnian berikut oleh faktor-koreksi bersesuaian ketidakmurnian G = 1,4; ketidakmurnian H = 0,8; ketidakmurnian lain tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,2%);

**Total.** Tidak lebih dari 3 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,6%).

**Abaikan batas.** 0,25 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%); abaikan puncak bahan pelarut.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5% pada pengeringan dengan suhu 105°C. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1 g.

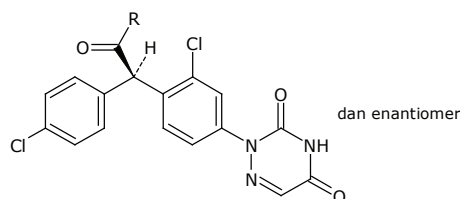
### Penetapan kadar

Larutkan 0,26 g dalam 35 ml tetrahidrofuran dan tambah 35 ml air. Titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 M, tentukan titik-akhir secara potensiometrik. Lakukan titrasi blanko. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 37,32 mg C<sub>17</sub>H<sub>10</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>.

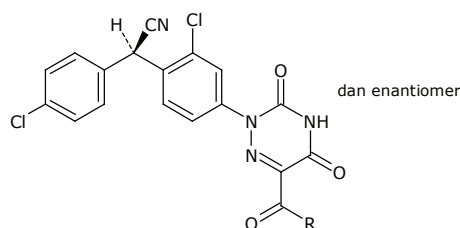
### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Ketidakhurnian



- A. R = OH: Asam (2RS)-[2-kloro-4-(3,5-diokso-4,5-dihidro-1,2,4-triazina-2(3H)-il)fenil] (4-klorofenil) asetat.
- B. R = NH<sub>2</sub>: (2RS)-2-[2-kloro-4-(3,5-diokso-4,5-dihidro-1,2,4-triazina-2(3H)-il)fenil]-2-(4-klorofenil)asetamida.

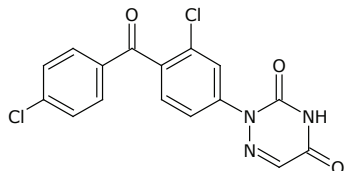


- C. R = NH<sub>2</sub>: 2-[3-kloro-4-[(RS)-(4-klorofenil)sianometil]fenil]-3,5-diokso-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,4-triazina-6-karboksamida.

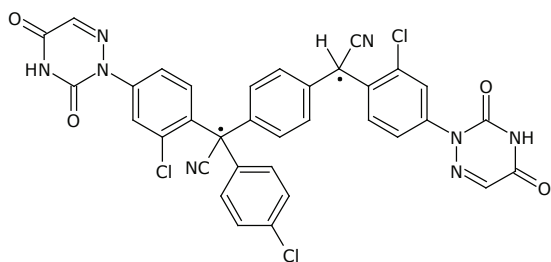
D. R = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>: 2-[3-kloro-4-[(RS)-(4-klorofenil)sianometil]fenil]-N,N-dimetil-3,5-diokso-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,4-triazina-6-karboksamida.

E. R = OCH<sub>3</sub>: Metil 2-[3-kloro-4-[(RS)-(4-klorofenil)sianometil]fenil]-3,5-diokso-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,4-triazina-6-karboksilat.

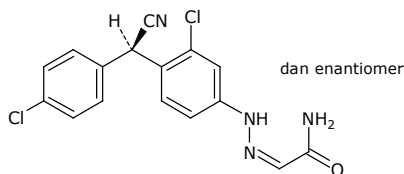
F. R = OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>: Etil 2-[3-kloro-4-[(RS)-(4-klorofenil)sianometil]fenil]-3,5-diokso-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,4-triazina-6-karboksilat.



G. 2-[3-kloro-4-(4-klorobenzoil)fenil]-1,2,4-triazina-3,5(2H,4H)-dion.



H. [2-kloro-4-(3,5-diokso-4,5-dihidro-1,2,4-triazina-2(3H)-il)fenil][4-[[2-kloro-4-(3,5-diokso-4,5-dihidro-1,2,4-triazina-2(3H)-il)fenil]sianometil]fenil](4-klorofenil)asetonitril.



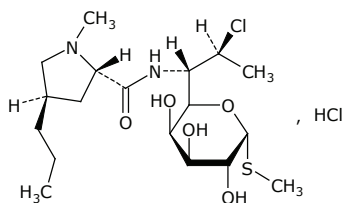
I. (Z)-2-[[3-kloro-4-[(RS)-(4-klorofenil)sianometil]fenil]diazaniliden]asetamida.

**Khasiat**

Koksidiostat.

**Klindamisin Hidroklorida**

*Clindamycin Hydrochloride*



C<sub>18</sub>H<sub>33</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S, HCl      BM: 461,5      [21462-39-5]

**Definisi**

Klindamisin hidroklorida adalah metil 7-kloro-6,7,8-trideoksi-6-[[[(2S,4R)-1-metil-4-propilpirrolidin-2-il]karbonil]amino]-1-tio-1-treo-α-D-galakto-oktopiranosid hidroklorida.

Mengandung tidak kurang dari 91,0% dan tidak lebih dari 102,0% dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, sukar larut dalam etanol (96%).

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: A, D.

Identifikasi kedua: B, C, D.

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar klindamisin hidroklorida.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan dalam metanol 10 mg zat uji sampai batas volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan dalam metanol 10 mg standar klindamisin hidroklorida sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan 10 mg standar klindamisin hidroklorida dan 10 mg linkomisin hidroklorida dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Lempeng.** Silika gel G.

**Fase gerak.** Campuran 19 volume 2-propanol, 38 volume campuran amonium asetat (150 g/l, atur pH 9,6 dengan amoniak) dan 43 volume etil asetat.

Totolkan 5 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan larutan kalium permanganat (1 g/l).

**Kesesuaian sistem.** Pada kromatogram yang di peroleh dengan larutan standar (b) menunjukkan 2 bercak yang terpisah. Bercak utama yang diperoleh dengan larutan uji, sesuai pada tempat, warna dan ukuran dengan bercak utama yang di peroleh dengan larutan standar (a).

C. Larutkan 10 mg dalam 2 ml asam hidroklorida encer dan panaskan di atas penangas air selama 3 menit. Tambahkan 3 ml larutan natrium karbonat dan 1 ml larutan natrium nitroprusid (20 g/l). Terbentuk warna merah-violet.

D. Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam air sampai batas volume 10 ml. Larutan memberikan reaksi klorida.

**pH.** 3,0—5,0. Larutkan 1,0 g dalam air bebas karbondioksida sampai volume 10 ml.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam air sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah +135° sampai +150° (zat anhidrat).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 50,0 mg standar klindamisin hidroklorida dalam fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 2,0 ml larutan uji dalam fase gerak sampai volume 100,0 ml.

**Kolom.** ODS, 5  $\mu\text{m}$ , ukuran: 0,25 m x 4,6 mm.

**Fase gerak.** Campuran 45 volume asetonitril dan 55 volume kalium dihidrogen fosfat (6,8 g/l atur pH 7,5 dengan kalium hidroksida).

**Laju alir.** 1 ml/min.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 210 nm.

**Injek.** 20  $\mu\text{l}$ .

**Waktu uji.** Dua kali waktu tambat klindamisin.

**Kesesuaian sistem.** Larutan standar (a) waktu tambat relatif klindamisin sekitar 10 min; ketidakh murnian A sekitar 0,4; ketidakh murnian B sekitar 0,65; ketidakh murnian C sekitar 0,8.

**Batas.** Ketidakh murnian B tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang di peroleh dengan larutan standar (b) (2,0%), ketidakh murnian C tidak lebih dari dua kali lebih area dari puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b) (4,0%), ketidakh murnian lain tidak lebih dari 0,5 kali area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,0%).

**Total.** Tidak lebih dari 3 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (6,0%).

**Abaikan batas.** 0,025 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%).

**Air.** 3,0%—6,0%, gunakan 0,5 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,5%,gunakan 1 g.

### Penetapan potensi/kadar

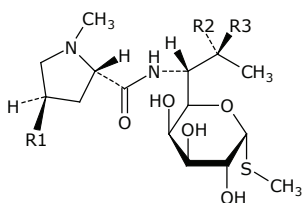
Lakukan penetapan potensi dengan salah satu metode berikut.

1. Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera pada uji untuk senyawa sejenis dengan cara injek 20  $\mu\text{l}$  larutan uji dan larutan standar (a). Kesesuaian pengulangan simpangan baku relatif tidak lebih dari 0,85% setelah 6 kali injek dari larutan standar (a).

### Penyimpanan

Kedap udara.

### Ketidakh murnian



- A. R<sub>1</sub> = CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = OH, R<sub>3</sub> = H: Metil 6,8-dideoksi-6-[[[(2S,4R)-1-metil-4-propilpirro- lidin-2-il]karbonil]amino]-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galakto-oktopiranosida (linkomisin).

lidin-2-il]karbonil]amino]-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galakto-oktopiranosida (linkomisin).

- B. R<sub>1</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, R<sub>2</sub> = H, R<sub>3</sub> = Cl: Metil 7-kloro-6,7,8-trideoksi-6-[[[(2S,4R)-4-etil-1-metilpirrolidin-2-il]karbonil]amino]-1-tio-L-treo- $\alpha$ -D-galakto-oktopiranosida (klindamisin B).
- C. R<sub>1</sub> = CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = Cl, R<sub>3</sub> = H: Metil 7-kloro-6,7,8-trideoksi-6-[[[(2S,4R)-1-metil-4-propilpirrolidin-2-il]karbonil]amino]-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-galakto-oktopiranosida (7-epiklindamisin).

### Khasiat

Antibiotik.

## Klindamisin Injeksi

### Definisi

Klindamisin injeksi adalah larutan steril klindamisin fosfat dalam air untuk injeksi.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung klindamisin, C<sub>18</sub>H<sub>33</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S tidak kurang dari 95% dan tidak lebih dari 105% dari jumlah yang tertera dalam etiket.

### Karakteristik

**Pemerian.** Larutan yang hampir tidak berwarna.

### Identifikasi

- A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 1,5 volume amonia 18 M, 30 volume toluen dan 70 volume metanol.

**Larutan (1).** Sediaan setara 50 mg klindamisin, encerkan sampai batas 10 ml dengan metanol.

**Larutan (2).** Standar klindamisin fosfat 0,5% b/v dalam metanol.

Totolkan secara terpisah 10  $\mu\text{l}$  dari setiap larutan. Angkat lempeng dan biarkan kering di udara. Semprot dengan kalium iodobismutat encer. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (2).

- B. Dalam penetapan potensi/kadar, kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) memperlihatkan puncak dengan waktu tambat yang sesuai dengan klindamisin fosfat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2).

**Keasaman-kebasaan.** pH 5,5—7,0.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Zat uji klindamisin 0,3% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (2).** Standar linkomisin hidroklorida 0,012% b/v, klindamisin fosfat 0,024% b/v dan benzil alkohol 0,0015% v/v dalam fase gerak.

Kondisi kromatograf seperti diuraikan dalam penetapan potensi/kadar. Urutan puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) adalah linkomisin hidroklorida, klindamisin fosfat dan benzil alkohol. Uji tidak absah kecuali jika faktor resolusi antara puncak yang sesuai dengan linkomisin hidroklorida dan klindamisin fosfat adalah sedikitnya 7. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) penjumlahan area puncak kedua yang lain tidak lebih besar dari 8,0% oleh normalisasi. Abaikan puncak sehubungan dengan benzil alkohol.

**Endotoksin bakteri.** Lakukan uji untuk endotoksin bakteri. Encerkan sediaan, dalam air hingga mengandung 10 mg klindamisin setiap ml (larutan A). Batas endotoksin larutan A adalah 6 IU/ml.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Sediaan uji klindamisin 0,015% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (2).** Standar klindamisin fosfat 0,018% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (3).** Standar linkomisin hidroklorida 0,012% b/v, standar klindamisin fosfat 0,024% b/v dan benzil alkohol 0,0015% v/v dalam fase gerak.

**Kolom.** Zorbax C8 atau yang sesuai, 20 cm × 4,6 mm.

**Fase gerak.** Campuran 25 volume asetonitril dan 75 volume larutan 1,36% b/v kalium dihidrogen ortofosfat atur pH 2,5 dengan asam ortofosfat.

**Laju alir.** 1 ml per menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 210 nm.

**Waktu uji.** 3 kali waktu tambat klindamisin.

Uji tidak absah kecuali jika faktor resolusi antara puncak yang sesuai dengan linkomisin hidroklorida dan klindamisin fosfat adalah sedikitnya 7,7.

#### Penyimpanan

Klindamisin injeksi harus disimpan pada suhu 8°—30°C.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluarsa. 5) Kondisi penyimpanan

## Klindamisin Kapsul

#### Definisi

Klindamisin kapsul mengandung klindamisin hidroklorida.

Kapsul memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan kapsul dan persyaratan berikut.

Mengandung klindamisin,  $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$  tidak kurang dari 95% dan tidak lebih dari 105% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

A. Pada sediaan, setara 30 mg klindamisin tambah 15 ml kloroform, aduk, saring dan uapkan hasil saringan sampai kering. Spektrum serapan inframerah dari residu, adalah sesuai dengan spektrum serapan standar klindamisin hidroklorida.

B. Pada penetapan potensi/kadar, kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) memperlihatkan waktu tambat puncak utama sama dengan pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Sediaan setara 50 mg klindamisin, tambah 50 ml fase gerak, aduk selama 15 menit dan saring (Whatman GF/C).

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan (1) sampai 50 volume dengan fase gerak.

**Larutan (3).** Standar klindamisin hidroklorida 0,1% b/v dalam fase gerak.

**Kolom.** Hypersil ODS 5  $\mu$ m atau yang sesuai ukuran 25 cm × 4,6 mm.

**Fase gerak.** Campuran 45 volume asetonitril dan 55 volume kalium dihidrogen ortofosfat (0,68% b/v, atur pH 7,5 dengan larutan kalium hidroksida 25% b/v).

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 210 nm.

Untuk larutan (1) biarkan proses kromatografi untuk sedikitnya dua kali lebih waktu tambat puncak utama. Waktu tambat puncak klindamisin sekitar 10 menit. Kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan puncak dengan waktu tambat relatif dengan klindamisin sekitar 0,4 [ketidakhurnian A (linkomisin)], sekitar 0,65 [ketidakhurnian B (klindamisin B)] dan sekitar 0,8 [ketidakhurnian C (7-epiklindamisin)]. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) area puncak lain yang sesuai dengan ketidakhurnian B tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (2%), area puncak lain yang sesuai dengan ketidakhurnian C tidak lebih besar dari dua kali lebih area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (4%), area puncak kedua yang lain tidak lebih besar dari setengah area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (1%) dan penjumlahan area dari semua puncak kedua tidak lebih besar dari 3 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (6%). Abaikan puncak lain dengan area kurang dari 0,025 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (0,05%).

**Air.** Tidak lebih dari 7,0% b/b. Gunakan 1 g.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan penetapan potensi seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik
2. Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti pada uji senyawa sejenis, menggunakan:

**Larutan (1).** Sediaan setara 50 mg klindamisin, tambah 50 ml fase gerak, aduk selama 15 menit dan saring.

**Larutan (2).** Standar klindamisin hidroklorida 0,11% b/v dalam fase gerak.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi 2) Jenis sediaan 3) Indikasi 4) Waktu kadaluwarsa 5) Kondisi penyimpanan.

### Klindamisin Serbuk Oral

#### Definisi

Klindamisin serbuk oral mengandung klindamisin hidroklorida.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut.

Mengandung klindamisin,  $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$  tidak kurang dari 95% dan tidak lebih dari 105% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

- A. Pada sediaan, setara 30 mg klindamisin tambah 15 ml kloroform, saring dan uapkan hasil saringan sampai kering. Spektrum serapan inframerah dari residu, adalah sesuai dengan spektrum serapan standar klindamisin hidroklorida.
- B. Pada penetapan potensi/kadar, kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) memperlihatkan waktu tambat puncak utama sama dengan pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Sediaan setara 50 mg klindamisin, tambah 50 ml fase gerak, aduk selama 15 menit dan saring (Whatman GF/C).

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan (1) sampai 50 volume dengan fase gerak.

**Larutan (3).** Standar klindamisin hidroklorida 0,1% b/v dalam fase gerak.

**Kolom.** Hypersil ODS 5  $\mu$ m atau yang sesuai ukuran 25 cm  $\times$  4,6 mm.

**Fase gerak.** Campuran 45 volume asetonitril dan 55 volume kalium dihidrogen ortofosfat (0,68% b/v, atur pH 7,5 dengan larutan kalium hidroksida 25% b/v).

**Laju alir.** 1 ml per menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 210 nm.

Untuk larutan (1) biarkan proses kromatografi untuk sedikitnya dua kali lebih waktu tambat puncak utama. Waktu tambat puncak klindamisin sekitar 10 menit. Kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3)

menunjukkan puncak dengan waktu tambat relatif dengan klindamisin sekitar 0,4 [ketidakmurnian A (linkomisin)], sekitar 0,65 [ketidakmurnian B (klindamisin B)] dan sekitar 0,8 [ketidakmurnian C (7-epiklindamisin)].

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) area puncak lain yang sesuai dengan ketidakmurnian B tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (2%), area puncak lain yang sesuai dengan ketidakmurnian C tidak lebih besar dari dua kali lebih area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (4%), area puncak kedua yang lain tidak lebih besar dari setengah area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (1%) dan penjumlahan area dari semua puncak kedua tidak lebih besar dari 3 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (6%). Abaikan puncak lain dengan area kurang dari 0,025 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (0,05%).

**Air.** Tidak lebih dari 3,0% b/b. Gunakan 1 g.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan penetapan potensi seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, seperti untuk uji senyawa sejenis menggunakan:

**Larutan (1).** Sediaan setara 50 mg klindamisin, tambah 50 ml fase gerak, aduk selama 15 menit.

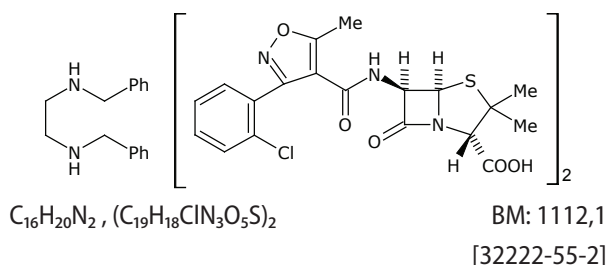
**Larutan (2).** Standar klindamisin hidroklorida 0,11% b/v dalam fase gerak.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi 2) Jenis sediaan 3) Indikasi 4) Waktu kadaluwarsa 5) Kondisi penyimpanan.

### Kloksasilin Benzatin

*Cloxacillin Benzathine*



#### Definisi

Kloksasilin benzatin adalah N,N'-dibenziletile-enediamonium bis[(6R)-6-(3-o-klorofenil-5-metilisoksa- zol-4-karboksamid) penisilinat].

Mengandung tidak kurang dari 92%  $C_{16}H_{20}N_2, (C_{19}H_{18}ClN_3O_5S)_2$  dan tidak kurang dari 20% dan

tidak lebih dari 22% benzatin,  $C_{16}H_{20}N_2$ , dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Sukar larut dalam air, etanol (96%) dan propan-2-ol. Mudah larut dalam metanol.

### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sama dengan spektrum serapan standar kloksasilin benzatin.
- Pada 0,1 g tambah 1 ml natrium hidroksida 1 M, aduk selama 2 menit, tambah 2 ml eter, aduk lagi selama 1 menit dan biarkan terpisah. Keringkan 1 ml lapisan eter, larutkan residu dalam 2 ml asam asetat glasial dan tambah 1 ml larutan kalium dikromat. Terbentuk endapan kuning emas.
- Pada 50 mg tambah 10 ml air dan saring. Pada 5 ml hasil saringan tambahkan beberapa tetes larutan perak nitrat, tidak terbentuk endapan. Panaskan 50 mg dengan 2 ml larutan kalium hidroksida-alkohol di atas penangas air selama 15 menit, tambahkan 15 mg arang aktif, kocok dan saring. Asamkan hasil saringan dengan asam nitrat 2 M, menunjukkan reaksi klorida.

**Air.** Tidak lebih dari 5% v/v.

### Penetapan potensi/kadar Kloksasilin

Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

### Benzatin

Pada 1 g, tambah 30 ml larutan natrium klorida jenuh dan 10 ml natrium hidroksida 5 M, aduk dan ekstrak 4 kali, masing-masing dengan 50 ml eter. Bilas ekstrak eter 3 kali masing-masing dengan 10 ml air. Bilas lapisan air dengan 25 ml eter. Tambahkan 2 ml etanol murni dan uapkan sampai kering. Pada residu, tambahkan 50 ml asam asetat glasial anhidrat dan titasi dengan asam perklorat 0,1 M, gunakan 0,1 ml larutan 1-naftolbenzen sebagai indikator. Lakukan titrasi blanko. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara 12,02 mg  $C_{16}H_{20}N_2$ .

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya dan simpan pada suhu tidak lebih 25°C.

### Khasiat

Antibiotik.

## Kloksasilin Benzatin Infus Intramamari

### Definisi

Kloksasilin benzatin infus intramamari adalah suspensi steril kloksasilin benzatin dalam zat pembawa yang sesuai.

Infus memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan infus dan persyaratan berikut:

Mengandung kloksasilin tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Pada sediaan setara 75 mg kloksasilin, ekstraksi 3 kali dengan petroleum spirit (titik didih 120°–160°C), masing-masing 15 ml. Buang ekstrak, bilas residu dengan eter, dan keringkan diudara. Residu yang diperoleh memenuhi syarat uji berikut:

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar kloksasilin benzatin.
- Pada 50 mg tambah 1 ml natrium hidroksida 1 M, aduk selama 2 menit, tambah 2 ml eter, aduk selama 1 menit, dan biarkan terpisah. Uapkan 1 ml lapisan eter sampai kering, larutkan residu dengan 2 ml asam asetat glasial dan tambah 1 ml larutan kalium dikromat, terjadi endapan kuning emas.

**Air.** Tidak lebih dari 2% b/b. Gunakan 3 g dengan campuran 70 volume kloroform dan 30 volume metanol anhidrat.

### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik

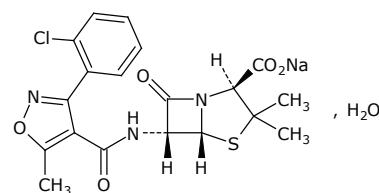
### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Untuk injeksi 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

## Kloksasilin Natrium *Cloxacillin Sodium*



$C_{19}H_{17}ClN_3NaO_5S \cdot H_2O$

BM: 475,9

[7081-44-9]

### Definisi

Kloksasilin natrium mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari natrium (2S, 5R, 6R)-6-[[[3-(2-klorofenil)-5-metilisoksazol-4-il] karbonil]amenito]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabiosiklo[3.2.0]heptan-2-karboksilat, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih, higroskopik.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air dan metanol, larut dalam alkohol.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: A, D.

Identifikasi kedua: B, C, D.

A. Spektrum serapan inframerah sama dengan spektrum serapan standar kloksasilin natrium.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel.

**Larutan uji.** Larutkan 25 mg zat uji dalam 5 ml air.

**Larutan standar (a).** Larutkan 25 mg standar kloksasilin natrium dalam 5 ml air.

**Larutan standar (b).** Larutkan 25 mg standar kloksasilin natrium, standar dikloksasilin natrium dan standar flukloksasilin natrium dalam 5 ml air.

**Fase gerak.** Campuran 30 volume aseton dan 70 volume amonium asetat (154 g/l), atur pH 5,0 dengan asam asetat glasial.

Totolkan secara terpisah 1 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara, paparkan dengan uap iodium sampai bercak muncul. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama pada tempat, warna dan ukuran bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan tiga bercak yang terpisah.

C. Pada 2 mg tambah 0,05 ml air dan 2 ml asam sulfat-formaldehid, aduk. Terbentuk warna kuning kehijauan. Panaskan dalam penangas air selama 1 menit, terbentuk larutan kuning.

D. Memberikan reaksi natrium.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 25,0 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S adalah jernih. Ukur serapan larutan S pada panjang gelombang 430 nm tidak lebih besar dari 0,04.

**pH.** Larutan S adalah 5,0—7,0.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam air R sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah +160° sampai +169°, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dalam penetapan potensi/kadar, dengan cara berikut:

**Injek.** Larutan uji (a) dan lanjutkan kromatografi sampai 5 kali waktu tambat puncak utama.

**Injek.** Larutan standar (b).

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan pengujian (a), area puncak lain, selain dari puncak utama, tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1%), jumlah area semua puncak, selain dari puncak utama, tidak lebih besar dari 5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan

larutan standar (b) (5%). Abaikan puncak lain dengan area kurang dari 0,05 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b).

**N,N-Dimetilanilin.** Tidak lebih dari 20 ppm.

**Asam 2-Etilheksanoat.** Tidak lebih dari 0,8% b/b.

**Air.** 3,0%—4,5%. Gunakan 0,3 g.

**Endotoksin bakteri.** Kurang dari 0,40 IU/mg.

**Penetapan potensi/kadar**

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

2. Dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 50,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai volume 50,0 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 5,0 ml larutan uji (a) dalam fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 50,0 mg standar kloksasilin natrium fase gerak sampai batas volume 50,0 ml. Encerkan 5,0 ml dengan fase gerak sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5,0 ml larutan uji (b) dengan fase gerak sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan 5 mg standar flukloksasilin natrium dan 5 mg standar kloksasilin natrium dalam fase gerak sampai volume 50,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil, 0,25 m x 4 mm.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Fase gerak.** Campur 25 volume asetonitril dan 75 volume kalium dihidrogen fosfat (2,7 g/l, atur pH 5,0 dengan natrium hidroksida encer).

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 225 nm.

**Injek.** 20 µl.

Injek larutan standar (c). Lakukan kesesuaian sistem sedemikian rupa sehingga puncak utama pada kromatogram yang diperoleh sedikitnya 50% dari skala-penuh. Uji tidak absah kecuali jika, resolusi antara puncak pertama (kloksasilin) dan puncak kedua (flukloksasilin) sedikitnya 2,5.

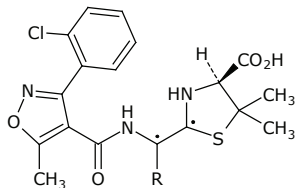
Injek enam kali larutan standar (a). Uji tidak absah kecuali jika, simpangan baku relatif area puncak kloksasilin kurang dari 1,0%.

Injek secara berurutan larutan uji (b) dan larutan standar (a).

**Penyimpanan**

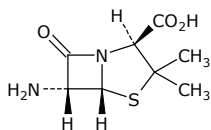
Kedap udara, dilindungi dari cahaya dan di simpan pada suhu tidak melebihi 25°C.



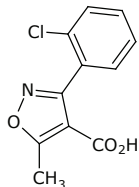
**Ketidakmurnian**

A. R = CO<sub>2</sub>H: Asam (4S)-2-[karboksi[[[3-(2-klorofenil)-5-metilisoksazol-4-il]karbonil]amino]metil]-5,5-dimetiltiazolidin-4-karboksilat (asam penisilat dari kloksasilin).

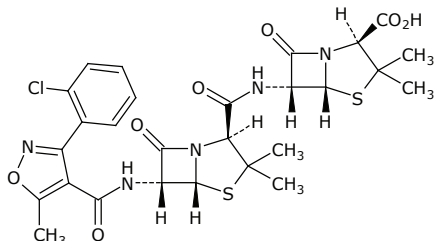
B. R = H: Asam (2RS,4S)-2-[[[3-(2-klorofenil)-5-metilisoksazol-4-il]karbonil]amino]metil]-5,5-dimetiltiazolidin-4-karboksilat (asam penisilat dari kloksasilin).



C. Asam (2S,5R,6R)-6-amino-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat (asam 6-aminopenisilanat).



D. Asam 3-(2-klorofenil)-5-metilisoksazola-4-karboksilat.



E. Asam (2S,5R,6R)-6-[[[3-(2-klorofenil)-5-metilisoksazol-4-il]karbonil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karbonil]amino]-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat (6-APA kloksasilin amida).

**Khasiat**

Antibiotik

## Kloksasilin Natrium Infus Intramamari

**Definisi**

Kloksasilin natrium infus intramamari adalah suspensi steril kloksasilin natrium dalam zat pembawa yang sesuai. Infus memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan infus dan persyaratan berikut:

Mengandung kloksasilin tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel.

**Larutan uji.** Larutkan 25 mg zat uji dalam 5 ml air.

**Larutan standar (a).** Larutkan 25 mg standar kloksasilin natrium dalam 5 ml air.

**Larutan standar (b).** Larutkan 25 mg standar kloksasilin natrium, standar dikloksasilin natrium dan standar flukloksasilin natrium dalam 5 ml air.

**Fase gerak.** Campur 30 volume aseton dan 70 volume amonium asetat (154 g/l), atur pH 5,0 dengan asam asetat glasial.

Totolkan secara terpisah 1 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara, paparkan dengan uap iodium sampai bercak muncul. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama pada tempat, warna dan ukuran bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a). Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan tiga bercak yang terpisah.

B. Pada 2 mg tambah 0,05 ml air dan 2 ml asam sulfat-formaldehid, aduk. Terbentuk warna kuning kehijauan. Panaskan dalam penangas air selama 1 menit, terbentuk larutan kuning.

C. Memberikan reaksi natrium.

**Penetapan potensi/kadar**

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
- Dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 50,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai volume 50,0 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 5,0 ml larutan uji (a) dalam fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 50,0 mg standar kloksasilin natrium fase gerak sampai batas volume 50,0 ml. Encerkan 5,0 ml dengan fase gerak sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5,0 ml larutan uji (b) dengan fase gerak sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan 5 mg standar flukloksasilin natrium dan 5 mg standar kloksasilin natrium dalam fase gerak sampai volume 50,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil, 0,25 m x 4 mm.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Fase gerak.** Campur 25 volume asetonitril dan 75 volume kalium dihidrogen fosfat (2,7 g/l, atur pH 5,0 dengan natrium hidroksida encer).

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 225 nm.

**Injek.** 20 µl.

Injek larutan standar (c). Lakukan kesesuaian sistem sedemikian rupa sehingga puncak utama pada kromatogram yang diperoleh sedikitnya 50% dari skala-penuh. Uji tidak absah kecuali jika, resolusi antara puncak pertama (kloksasilin) dan puncak kedua (flukloksasilin) sedikitnya 2,5. Injek enam kali larutan standar (a). Uji tidak absah kecuali jika, simpangan baku relatif area puncak kloksasilin kurang dari 1,0%. Injek secara berurutan larutan uji (b) dan larutan standar (a).

### Penyimpanan

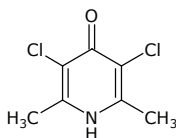
Dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Untuk injeksi. 3) Kadaluwarsa. 4) Kondisi penyimpanan.

## Klopidol

*Clopidol*



$C_7H_7Cl_2NO$

BM: 192

[2971-90-6]

### Definisi

Mengandung klopidol tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dihitung dengan standar terhadap zat yang telah dikeringkan.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih. Suhu lebur sekitar 320°C.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, agak larut dalam alkohol, larut dalam metanol.

### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar klopidol.
- Periksa kromatogram yang diperoleh pada penetapan kadar, waktu tambat larutan uji sama dengan waktu tambat larutan standar klopidol.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 3%, gunakan 1 g dengan pengeringan pada suhu 100°C

### Penetapan kadar

Lakukan penetapan kadar dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Pada 2,5 mg klopidol, tambah 100 ml campuran 24 bagian metanol dan 1 bagian amonia. Aduk selama 10 menit dan sentrifus. Saring supernatan encerkan dengan fase gerak.

**Larutan standar.** Larutkan 2,5 mg standar klopidol dalam 100 ml campuran 24 bagian metanol dan 1 bagian amonia. Aduk selama 10 menit dan sentrifus. Saring supernatan encerkan dengan fase gerak.

**Kolom.** Lichrosorb  $NH_2$  ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 49 volume asetonitril dan 1 volume air.

**Detektor.** Spektrofotometer panjang gelombang 260 nm.

**Injek.** 20  $\mu$ l dari setiap larutan.

### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup rapat.

### Khasiat

Koksidiostat.

## Klopidol Serbuk Oral

### Definisi

Klopidol serbuk oral mengandung klopidol.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral.

Mengandung klopidol tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar klopidol
- Periksa kromatogram yang diperoleh pada penetapan kadar, waktu tambat larutan uji sama dengan waktu tambat larutan standar klopidol

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 3%, gunakan 1 g dengan pengeringan pada suhu 100°C

### Penetapan kadar

Lakukan penetapan kadar dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Pada 2,5 mg klopidol, tambah 100 ml campuran 24 bagian metanol dan 1 bagian amonia. Aduk selama 10 menit dan sentrifus. Saring supernatan encerkan dengan fase gerak.

**Larutan standar.** Larutkan 2,5 mg standar klopidol dalam 100 ml campuran 24 bagian metanol dan 1 bagian amonia. Aduk selama 10 menit dan sentrifus. Saring supernatan encerkan dengan fase gerak.

**Kolom.** Lichrosorb  $NH_2$  ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 49 volume asetonitril dan 1 volume air.

**Detektor.** Spektrofotometer panjang gelombang 260 nm.

**Injek.** 20  $\mu$ l dari setiap larutan

### Penyimpanan

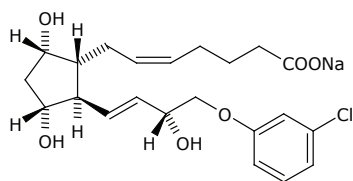
Dalam wadah tertutup kedap dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Indikasi, 3) Kadaluwarsa 4) Kondisi penyimpanan.

## Kloprostenol Natrium

### *Cloprostenol Sodium*



$C_{22}H_{28}ClNaO_6$

BM: 446,9

[55028-72-3]

#### Definisi

Kloprostenol natrium adalah ( $\pm$ )-(5Z)-7-(1R,3R,5S)-2-[(1E,3R)-4-(3-klorofenoksi)-3-hidroksibut-1-enil]-3,5-dihidroksisiklopentil hept-5-enoat.

Mengandung tidak kurang dari 97,5% dan tidak lebih dari 102,5% dari  $C_{22}H_{28}ClNaO_6$ , dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih, tak berbentuk, higroskopik.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, etanol (96%) dan metanol, praktis tidak larut dalam aseton.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah sama dengan spektrum serapan standar kloprostenol natrium.

B. Memberikan reaksi natrium.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** 2,0% b/v zat uji dalam etanol murni.

**Larutan (2).** 0,050% b/v zat uji dalam etanol murni.

**Kolom.** Silika gel 5  $\mu$ m, ukuran 25 cm  $\times$  4,6 mm.

**Fase gerak.** Campur 1 volume asam asetat glasial, 70 volume etanol dan 930 volume heksan.

**Laju alir.** 1,8 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 220 nm.

**Injek.** 5  $\mu$ l dari setiap larutan.

Lakukan penyesuaian dengan menggunakan larutan (2), sampai memperoleh puncak utama dengan tinggi minimal 50% skala-penuh. Waktu uji dua kali waktu tambat puncak kloprostenol. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1), jumlah area dari puncak lain selain puncak utama tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (2,5%).

**Air.** Tidak lebih dari 3,0% b/b.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** 0,08% b/v zat uji dalam etanol murni.

**Larutan (2).** 0,08% b/v standar kloprostenol natrium dalam etanol murni.

**Kolom.** Silika gel 5  $\mu$ m, ukuran 25 cm  $\times$  4,6 mm.

**Fase gerak.** Campur 1 volume asam asetat glasial, 100 volume etanol murni dan 930 volume heksan.

**Laju alir.** 1,8 ml/menit.

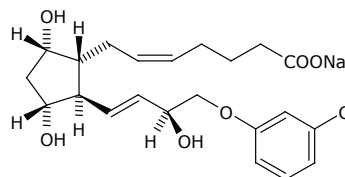
**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 220 nm.

**Injek.** 5  $\mu$ l dari setiap larutan.

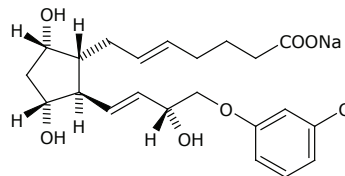
#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya dan embun.

#### Ketidakhurnian



A. ( $\pm$ )-(5Z)-7-(1R,3R,5S)-2-[(1E,3S)-4-(3-klorofenoksi)-3-hidroksibut-1-enil]-3,5-dihidroksisiklopentilhept-5-enoat (epimer).



B. ( $\pm$ )-(5E)-7-(1R,3R,5S)-2-[(1E,3R)-4-(3-klorofenoksi)-3-hidroksibut-1-enil]-3,5-dihidroksisiklopentilhept-5-enoat (trans-isomer).

#### Khasiat

Prostanoid luteolitik.

## Kloprostenol Injeksi

#### Definisi

Kloprostenol injeksi adalah larutan steril kloprostenol natrium dalam air untuk injeksi dan dapat mengandung larutan dapar yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

Pada penetapan kadar, kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) memberikan waktu tambat yang sama dengan standar kloprostenol dari larutan (1).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** 2,0% b/v zat uji dalam etanol murni.

**Larutan (2).** 0,050% b/v zat uji dalam etanol murni.

**Kolom.** Silika gel 5  $\mu$ m, ukuran 25 cm  $\times$  4,6 mm.

**Fase gerak.** Campur 1 volume asam asetat glasial, 70 volume etanol dan 930 volume heksan.

**Laju alir.** 1,8 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 220 nm.

**Injek.** 5 µl dari setiap larutan.

Lakukan penyesuaian dengan menggunakan larutan (2), sampai memperoleh puncak utama dengan tinggi minimal 50% skala-penuh. Waktu uji dua kali waktu tambat puncak kloprostenol. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1), jumlah area dari puncak lain selain puncak utama tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (2,5%).

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** 0,08% b/v zat uji dalam etanol

**Larutan (2).** 0,08% b/v standar kloprostenol natrium dalam etanol murni.

**Kolom.** Silika gel 5 µm, 25 cm × 4,6 mm.

**Fase gerak.** Campur 1 volume asam asetat glasial, 100 volume etanol murni dan 930 volume heksan.

**Laju alir.** 1,8 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 220 nm.

**Injek.** 5 µl dari setiap larutan.

#### Penyimpanan

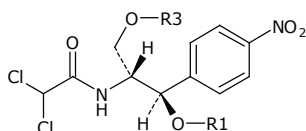
Dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Untuk injeksi 3) Kadaluwarsa 4) Kondisi penyimpanan.

## Kloramfenikol Natrium Suksinat

*Chloramphenicol Sodium Succinate*



1 isomer: R1 = CO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>Na, R3 = H  
3 isomer: R1 = H, R3 = CO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>Na

C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>8</sub>

BM: 445,2

[982-57-0]

#### Definisi

Kloramfenikol natrium suksinat adalah campuran dengan proporsi bervariasi dari natrium (2R,3R)-2-[(dikloroasetil)amino]-3-hidroksi-3-(4-nitrofenil)propil butandioat (3 isomer) dan natrium (1R,2R)-2-[(dikloroasetil)amino]-3-hidroksi-1-(4-nitrofenil)propil butandioat (1 isomer).

Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% dari C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>8</sub>, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau putih kekuningan, higroskopik.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air, mudah larut dalam alkohol.

#### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika GF<sub>254</sub>.

**Larutan uji.** Larutkan 20 mg zat uji dalam 2 ml aseton.

**Larutan standar (a).** Larutkan 20 mg standar kloramfenikol natrium suksinat dalam 2 ml aseton.

**Larutan standar (b).** Larutkan 20 mg standar kloramfenikol dalam 2 ml aseton.

**Fase gerak.** Campur 1 volume asam asetat encer, 14 volume metanol dan 85 volume kloroform. Totolkan secara terpisah 2 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan biarkan kering di udara. Periksa dibawah cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm. Kedua bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama pada tempat dan ukuran yang di peroleh dengan larutan standar (a). Posisi bercak berbeda dari bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b).

B. Larutkan 10 mg dalam 1 ml alkohol (50%v/v), tambahkan 3 ml larutan kalsium klorida 10 g/l dan 50 mg serbuk seng, panaskan di atas penangas air selama 10 menit, saring dan biarkan dingin. Tambahkan 0,1 ml benzoil klorida dan kocok selama 1 menit. Tambahkan 0,5 ml larutan besi (III) klorida dan 2 ml koroform dan kocok. Lapisan atas berwarna merah keunguan sampai ungu.

C. Larutkan 50 mg dalam 1 ml piridin. Tambahkan 0,5 ml natrium hidroksida encer dan 1,5 ml air. Panaskan di atas penangas air selama 3 menit. Terbentuk warna merah. Tambahkan 2 ml asam nitrat dan dinginkan dengan air yang mengalir. Tambahkan 1 ml perak nitrat 0,1M. Secara perlahan-lahan terbentuk endapan putih.

D. Memberikan reaksi natrium.

**pH.** 6,4—7,0. Larutkan dan encerkan 2,50 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 10 ml.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,50 g dalam air sampai volume 10,0 ml. Rotasi jenis adalah +5,0° sampai +8,0°, dihitung terhadap zat anhidrat.

**Kloramfenikol dan kloramfenikol dinatrium disuksinat.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10,0 mg standar kloramfenikol dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml (larutan a). Ambil 5,0 ml dan encerkan dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10,0 mg standar kloramfenikol dinatrium disuksinat dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml (larutan b). Ambil 5,0 ml dan encerkan dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 25 mg zat uji dalam fase gerak, tambahkan 5 ml larutan (a) dan 5 ml larutan (b) sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** ODS 5  $\mu\text{m}$ , 0,25 mx 4,6 mm.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Fase gerak.** Campur 5 volume asam fosfat (20 g/l), 40 volume metanol dan 55 volume air.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 275 nm.

**Injek.** 20  $\mu\text{l}$  larutan uji dan larutan standar.

Uji tidak absah jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c), kedua puncak sesuai dengan larutan standar (a) dan (b) dan terpisah dari puncak yang sesuai dengan kedua puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji. Jika perlu, lakukan penyesuaian metanol untuk fase gerak. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, area puncak sesuai dengan kloramfenikol, tidak lebih besar dari area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a) (2,0%); area puncak sesuai dengan kloramfenikol dinatrium suksinat tidak lebih besar dari area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b) (2,0%).

**Air.** Tidak lebih dari 2,0%, gunakan 0,5 g.

**Pirogenitas.** Jika digunakan parenteral harus memenuhi syarat pirogen. Injek 2,5 ml yang mengandung 2 mg/ml zat uji dalam air pada kelinci

#### Penetapan potensi/kadar

Potensi ditetapkan dengan salah satu metode berikut.

1. Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan cara spektrofotometri, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,2 g zat uji dalam air sampai batas volume 500,0 ml. Ambil 5,0 ml dan encerkan dalam air sampai batas volume 100,0 ml. Ukur serapan maksimum pada panjang gelombang 276 nm.

#### Penyimpanan

Kedap udara, dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Antibiotik

### Kloramfenikol Injeksi

#### Definisi

Kloramfenikol injeksi adalah suspensi steril dari kloramfenikol natrium suksinat dalam air untuk injeksi dan dapat mengandung pembawa sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung kloramfenikol,  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_5$  tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket

#### Identifikasi

- A. Sentrifus sediaan, setara 0,15 g kloramfenikol. Bilas residu dengan air, keringkan diatas atas silika gel anhidrat selama 1 jam pada suhu 105°C. Bilas 75 mg residu dua kali, masing-masing 10 ml petroleum benzin (titik didih 60°–80°C) dan biarkan sampai kering. Spektrum serapan inframerah dari residu sesuai dengan spektrum serapan standar kloramfenikol.
- B. Dalam uji untuk senyawa sejenis, bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan 1  $\mu\text{l}$  dari larutan (1) adalah sesuai pada tempat dan ukuran dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (2).
- C. Pada 5 ml larutan residu 0,1% b/v yang diperoleh dalam uji A, tambahkan beberapa tetes larutan perak nitrat. Tidak ada endapan. Panaskan sekitar 50 mg dengan 3 ml larutan alkohol-kalium hidroksida di atas tangas air selama 15 menit, tambahkan 15 mg arang aktif, kocok dan saring. Hasil saringan memberikan reaksi klorida.
- D. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika GF<sub>254</sub>.

**Larutan uji.** Larutkan 20 mg zat uji dalam 2 ml aseton.

**Larutan standar (a).** Larutkan 20 mg standar kloramfenikol natrium suksinat dalam 2 ml aseton.

**Larutan standar (b).** Larutkan 20 mg standar kloramfenikol dalam 2 ml aseton.

**Fase gerak.** Campur 1 volume asam asetat encer, 14 volume metanol dan 85 volume kloroform. Totolkan secara terpisah 2  $\mu\text{l}$  dari setiap larutan. Angkat lempeng dan biarkan kering di udara. Periksa dibawah cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm.

Kedua bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama pada tempat dan ukuran yang di peroleh dengan larutan standar (a). Posisi bercak berbeda dari bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b).

**Keasaman.** pH 3,5—6,5.

**Konsistensi.** Kloramfenikol injeksi berisi 150 mg setiap ml akan mengalir melalui jarum suntik hypodermic ukuran 23 G (Standar Inggris 3522: 1962).

**2-Amino-1-(4-nitrofenil)propan-1,3-diol.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Standar 2-amino-1-(4-nitrofenil)propan-1,3-diol 0,00225% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (2).** Sediaan injeksi (kloramfenikol 0,030% b/v dalam fase gerak.

**Kolom.** Nucleosil C18 5  $\mu\text{m}$ , atau yang sesuai dengan ukuran 10 cm  $\times$  4,6 mm.

**Fase gerak.** Campuran 85 volume natrium pentanesulfonat 0,012 M, 15 volume asetonitril dan 1 volume asam asetat glasial.

**Laju alir.** 2 ml per menit.

**Detektor:** Spektrofotometer pada panjang gelombang 272 nm.

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2), area puncak yang sesuai dengan 2-amino-1-(4-nitrofenil)propan-1,3-diol, tidak lebih besar dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) (7,5%).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika GF<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Campuran 1 volume air, 10 volume metanol dan 90 volume kloroform.

**Larutan (1).** Berisi residu 1,0% b/v dalam aseton yang diperoleh dalam uji identifikasi A (saring jika diperlukan).

**Larutan (2).** Standar kloramfenikol 1,0% b/v dalam aseton.

**Larutan (3).** Encerkan 0,5 ml larutan (2) sampai batas volume 100 ml dengan aseton.

Totolkan secara terpisah 1 µl dan 20 µl dari larutan (1), 1 µl dari larutan (2) dan 20 µl dari larutan (3). Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa di bawah cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak kedua yang lain pada kromatogram yang diperoleh dengan 20 µl dari larutan (1) tidak lebih kuat dibandingkan bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) (0,5%). Abaikan bercak yang lain yang ada pada garis penotolan.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.
- Lakukan dengan metode spektrofotometri, menggunakan larutan: Pada sediaan, setara 0,75 g kloramfenikol tambah air sampai batas volume 1000 ml dan aduk sampai diperoleh larutan jernih. Encerkan 5 ml dengan air sampai batas volume 200 ml dan ukur serapan pada panjang gelombang 278 nm. Hitung potensi dari C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> dengan 298 sebagai nilai A (1%, 1 cm) di pada panjang gelombang 278 nm.

#### Penyimpanan

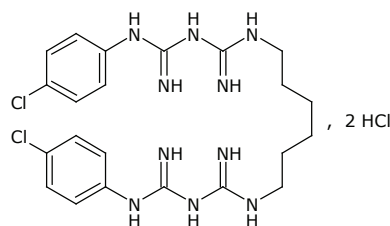
Kloramfenikol injeksi harus dilindungi dari cahaya. Tidak boleh beku.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Klorheksidin Hidroklorida

*Chlorhexidine Hydrochloride*



C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>10</sub>, 2HCl

BM: 578,4

[3697-42-5]

#### Definisi

Klorheksidin hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari 1,1'-(heksan-1,6-diil)bis[5-(4-klorofenil)biguanida] dihidroklorida, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Agak sukar larut dalam air dan propilen glikol, sangat sedikit larut dalam alkohol.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, D.

Identifikasi kedua: B, C, D.

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar klorheksidin hidroklorida.
- Larutkan 5 mg dalam 5 ml setrimid (10 g/l) hangat dan tambah 1 ml natrium hidroksida kuat dan 1 ml air brom. Terbentuk warna merah gelap.
- Larutkan 0,3 g dalam 10 ml campuran dengan volume yang sama dari asam hidroklorida dan air. Tambah 40 ml air, jika perlu saring dan dinginkan dalam air es. Buat alkali terhadap kertas titan kuning dengan penetasan natrium hidroksida pekat sambil di aduk dan tambah 1 ml berlebih. Saring, bilas endapan dengan air sampai bebas dari alkali dan rekristalisasi dari alkohol (70% v/v). Keringkan pada suhu 100°—105°C. Suhu lebur residu adalah 132°—136°C.
- Memberikan reaksi klorida.

**Kloroanilin.** Pada 0,2 g zat uji, tambah 1 ml asam hidroklorida, aduk selama 30 detik, encerkan dengan air sampai volume 30 ml dan aduk sampai diperoleh larutan jernih. Segera tambah 2,5 ml asam hidroklorida encer, aduk; tambah 0,35 ml natrium nitrit, aduk, 2 ml amonium sulfamat (50 g/l), aduk, 5 ml naftiletildiamin dihidroklorida (1,0 g/l), aduk dan 1 ml alkohol, aduk; encerkan dengan air sampai volume 50,0 ml dan biarkan selama 30 menit. Warna biru-kemerahan larutan tidak lebih kuat intensitasnya dibanding dengan larutan standar yang dipersiapkan dengan proses yang sama menggunakan campuran 10 ml campuran (0,010 g/l dalam asam hidroklorida encer) dan 20 ml asam hidroklorida encer (500 ppm).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,20 g zat uji dalam fase gerak sampai volume 100 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 15 mg standar klorheksidin hidroklorida dalam fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 2,5 ml larutan uji dengan fase gerak sampai volume 100 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 2,0 ml larutan standar (b) dengan fase gerak sampai volume 10 ml. Encerkan 1,0 ml dengan fase gerak sampai volume 10 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil, 0,2 m x 4 mm.

**Fase gerak.** Larutkan 2,0 g natrium oktansulfonat dalam campuran 120 ml asam asetat glasial, 270 ml air dan 730 ml metanol.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Ekuilibrisasi kolom dengan fase gerak selama 1 jam. Atur sensitivitas system sehingga tinggi puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan 10 µl larutan standar (b) adalah 50% skala penuh. Injeksi 10 µl larutan standar (a). Uji tidak absah, kecuali jika, kromatogram yang dihasilkan adalah sama dengan kromatogram standar klorheksidin untuk uji unjuk kerja dalam puncak ketidakhurnian A dan ketidakhurnian B. Jika perlu, atur konsentrasi asam asetat dalam fase gerak (peningkatan konsentrasi akan menurunkan waktu tambat). Injeksi 10 µl larutan uji dan 10 µl larutan standar (b) dan (c). Rekam kromatogram larutan standar (b) dan (c) sampai puncak klorheksidin terelusi dan rekam kromatogram larutan uji selama 6 kali waktu tambat klorheksidin. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, jumlah area puncak, merupakan bagian puncak utama adalah tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (2,5 per cent). Abaikan puncak dengan waktu tambat relatif 0,25 atau kurang, terhadap klorheksidin, dan puncak dengan area yang kurang dari area yang kurang dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0%, pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

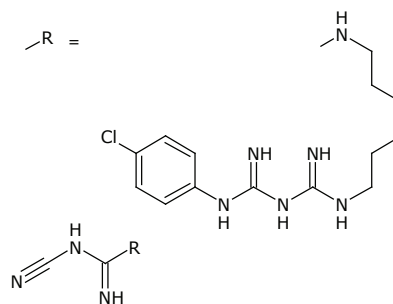
**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%, gunakan 1 g.

#### Penetapan kadar

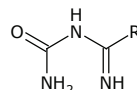
Larutkan 100,0 mg dalam asam format anhidrat dan 70 ml asam asetat glasial. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M, tentukan titik akhir secara potensiometrik.

Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 14,46 mg  $C_{22}H_{32}Cl_4N_{10}$ .

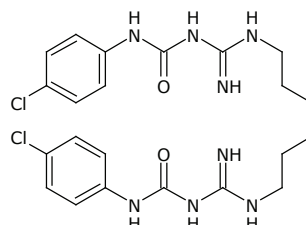
#### Ketidakhurnian



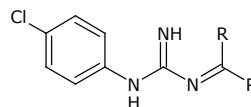
A. 1-(4-klorofenil)-5-[6-(3-sianoguanidino)heksil]biguanida.



B. [[[6-[5-(4-klorofenil)guanidino]heksil]amino]iminometil]urea.



C. 1,1'-[heksana-1,6-diilbis[imino(iminokarbonil)]]bis[3-(4-klorofenil)urea].



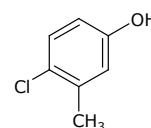
D. 1,1'-[[[[[(4-klorofenil)amino]iminometil]imino]metilena]bis[imino(heksana-1,6-diil)]]]bis[5-(4-klorofenil)biguanida].

#### Khasiat

Disinfektan.

## Klorokresol

*Chlorocresol*



$C_7H_7ClO$

BM: 142,6

[59-50-7]

#### Definisi

Klorokresol mengandung tidak kurang 98,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari 4-kloro-3-metilfenol.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kristal kompak seperti pellet atau kristal tidak berwarna.

**Kelarutan.** Sukar larut dalam air, sangat mudah larut dalam alkohol, mudah larut dalam minyak mineral. Larut dalam alkali hidroksida.

**Identifikasi**

- A. Suhu lebur 64°—67°C.
- B. Pada 0,1 g tambah 0,2 ml benzoil klorida dan 0,5 ml natrium hidroksida encer. Aduk sampai terbentuk endapan putih. Tambah 5 ml air dan saring. Endapan, rekristalisasi dari 5 ml metanol, keringkan pada suhu 70°C, melebur pada suhu 85°C.
- C. Pada 5 ml larutan S tambah 0,1 ml besi (III) klorida. Terbentuk warna kebiruan.

**Larutan S.** Pada 3,0 g tambah 60 ml air bebas karbondioksida, aduk selama 2 menit dan saring.

**Kejernihan larutan.** Larutkan dan encerkan 1,25 g dalam alkohol sampai volume 25 ml. Larutan adalah jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibanding dengan larutan standar BY<sub>6</sub>.

**Keasaman.** Pada 10 ml larutan S tambah 0,1 ml merah metal. Larutan menjadi jingga atau merah. Tidak lebih dari 0,2 ml natrium hidroksida 0,01 M diperlukan untuk merubah warna menjadi kuning.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 1,0 g zat uji dalam aseton sampai batas volume 100 ml.

**Kolom.** Tanah diatome silenisasi ukuran 1,8 mm x 4 mm, atau yang sesuai, dengan suhu 125°C.

**Gas pembawa.** Nitrogen.

**Laju alir.** 30 ml/menit.

**Detektor.** Detektor ionisasi nyala (FID) dengan suhu 230°C dan suhu injektor 210°C.

Lakukan proses kromatografi 3 kali waktu tambat (sekitar 8 menit) puncak klorokresol. Pada kromatogram yang diperoleh, jumlah area puncak klorokresol tidak lebih 1% dari area puncak. Abaikan puncak pelarut.

**Zat tidak menguap.** Evaporasi 2,0 g sampai kering diatas penangas air dan keringkan residu pada suhu 100°—105°C. Berat residu tidak lebih dari 2 mg (0,1%).

**Penetapan kadar**

Larutkan 70,0 mg dalam asam asetat glasial. Tambah 25,0 ml kalium bromat 0,0167 M, 20 ml kalium bromida (150 g/l) dan 10 ml asam hidroklorida. Biarkan dan lindungi dari cahaya selama 15 menit. Tambah 1 g kalium iodide dan 100 ml air. Titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 M, Aduk dan gunakan 1 ml larutan kanji sebagai indikator. Lakukan titrasi blanko. Setiap ml natrium tiosulfat 0,0167 M setara dengan 3,565 mg C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>ClO.

**Penyimpanan**

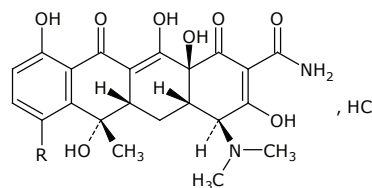
Lindungi dari cahaya.

**Khasiat**

Antiseptik; antimikroba.

**Klortetrasiklin Hidroklorida**

*Chlortetracycline Hydrochloride*



Compound	R	Rumus Mol.	M <sub>r</sub>
Klortetrasiklin hidroklorida	Cl	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	515,3
Tetrasiklin hidroklorida	H	C <sub>22</sub> H <sub>25</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	480,9

**Definisi**

Campuran antibiotik, komponen utama adalah hidroklorida dari (4S,4aS,5aS,6S,12aS)-7-kloro-4-(dimetilamino)-3,6,10,12,12a-pentahidroksi-6-metil-1,11-diokso-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidrotetrasen-2-karboksamid (klortetrasiklin hidroklorida). Diperoleh pertumbuhan dari *Streptomyces aureofaciens* atau dengan cara yang sesuai.

C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub> minimum 89,5% (zat anhidrat), C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>8</sub> maksimum 8,0% (zat anhidrat), tidak kurang dari 94,5% dan tidak lebih dari 102,0% klortetrasiklin hidroklorida dan tetrasiklin hidroklorida (zat anhidrat).

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kuning.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air dan alkohol. Larut dalam alkali hidroksida dan karbonat.

**Identifikasi**

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 5 mg zat uji dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 5 mg standar klortetrasiklin hidroklorida dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 5 mg standar klortetrasiklin hidroklorida, 5 mg doksisisiklin dan 5 mg demeklosiklin hidroklorida dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Lempeng.** Silika gel F<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Campur 20 volume asetonitril, 20 volume metanol dan 60 volume asam oksalat (63 g/l, atur pH 2 dengan amoniak pekat).

Totolkan secara terpisah 1 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm).

**Kesesuaian sistem.** Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan 3 bercak yang terpisah.

**Hasil.** Bercak utama pada kromatogram yang



diperoleh dengan larutan uji sesuai tempat dan ukuran bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

B. Pada 2 mg tambah 5 ml asam sulfat, terbentuk warna hijau kebiruan. Tambah 2,5 ml air, terbentuk warna kecoklatan.

C. Larutan memberikan reaksi klorida.

**pH.** 2,3—3,3. Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 10 ml.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,125 g dalam air sampai batas volume 50,0 ml. Rotasi jenis adalah  $-235^\circ$  sampai  $-250^\circ$  (zat anhidrat).

**Serapan cahaya.** Tidak lebih dari 0,40 pada panjang gelombang 460 nm. Larutkan dan encerkan 0,125 g dalam air sampai batas volume 25,0 ml.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25,0 mg zat uji dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20,0 mg standar klortetrasiklin dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 20,0 mg standar 4-epiklortetrasiklin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 20,0 mg standar tetrasiklin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (d).** Campur 5,0 ml larutan standar (a), 10,0 ml larutan standar (b) dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (e).** Campur 5,0 ml larutan standar (b) dan 5,0 ml larutan standar (c) dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (f).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (c) dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 20,0 ml. Encerkan 5,0 ml larutan dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 200,0 ml.

**Kolom.** Oktilsilil 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 0,25 m x 4,6 mm, suhu 35°C.

**Fase gerak.** Campur 500 ml air, 50 ml asam perklorat dan 450 ml dimetil sulfoksid.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

**Injek.** 20  $\mu\text{l}$  larutan uji dan larutan standar (d), (e) dan (f).

#### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (d).** Resolusi minimum 2,0 antara puncak ketidakhurnian A dan klortetrasiklin. Jika diperlukan, lakukan penyesuaian dimetil sulfoksid dalam fase gerak.

**Faktor simetri.** Maksimum 1,3 untuk puncak klortetrasiklin.

#### Batas

**Ketidakhurnian A.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e) (4,0%).

**Total ketidakhurnian lain antara puncak pelarut dan klortetrasiklin.** Tidak lebih dari 0,25 kali area puncak ketidakhurnian A pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e) (1,0%).

**Abaikan batas.** Area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (f) (0,1%).

**Logam berat.** Tidak lebih dari 50 ppm.

**Air.** Tidak lebih dari 2,0%. Gunakan 0,3 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih 0,5%. Gunakan 1,0 g.

**Endotoksin bakteri.** Tidak lebih dari 1 IU/mg.

#### Penetapan potensi/kadar

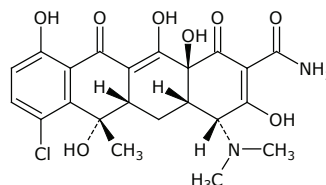
Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
- Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis dengan cara: injek larutan uji dan larutan standar (a) dan (e).

#### Penyimpanan

Kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakhurnian



A. (4R,4aS,5aS,6S,12aS)-7-kloro-4-(dimetilamino)-3,6,10,12,12a-pentahidroksi-6-metil-1,11-dioksa-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidrotetrasena-2-karboksamida (4-epiklortetrasiklin).

B. Demeklosiklin.

#### Khasiat

Antibiotik.

## Klortetrasiklin Kapsul

#### Definisi

Klortetrasiklin kapsul mengandung klortetrasiklin hidroklorida.

Kapsul memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan kapsul dan persyaratan berikut.

Mengandung klortetrasiklin hidroklorida tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campurkan 200 ml campuran 2 volume etil asetat, 2 volume kloroform dan 1 volume aseton dengan 25 ml dinatrium edetat 0,1 M, atur pH 7 dengan amonia 5 M, biarkan terpisah. Lapisan bawah untuk fase gerak.

**Larutan (1).** Sediaan uji 0,05% b/v.

**Larutan (2).** Standar klortetrasiklin hidroklorida 0,05% b/v.

**Larutan (3).** Standar demeklosiklin hidroklorida 0,05% b/v dan standar tetrasiklin hidroklorida 0,05% b/v.

Totolkan 1 µl secara terpisah dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan diudara. Paparkan pada uap amonia 13,5M. Periksa dengan cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (2). Bercak yang diperoleh dengan larutan (3) terlihat 4 bercak yang terpisah.

- B. Pada 0,5 mg, tambah 2 ml asam sulfat, terjadi warna biru tua yang kemudian menjadi hijau kebiruan. Tambahkan 1 ml air, terjadi warna kecoklatan.
- C. Larutan 0,1% b/v membentuk endapan dengan larutan iodium dan dengan larutan trinitrofenol.
- D. Larutan sediaan 0,1% b/v dalam larutan dapar fosfat pH 7,6 jika dipanaskan pada suhu 100°C selama 1 menit berfluoresensi biru kuat bila dilihat dengan cahaya ultraviolet (365 nm).

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan menurut cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotika.

#### Penyimpanan

Dalam wadah, kedap dan terlindung dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Indikasi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

### Klortetrasiklin Serbuk Oral

#### Definisi

Klortetrasiklin serbuk oral mengandung klortetrasiklin hidroklorida dalam pembawa yang sesuai.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut:

Mengandung klortetrasiklin hidroklorida tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

- A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campurkan 200 ml campuran 2 volume etil asetat, 2 volume kloroform dan 1 volume

aseton dengan 25 ml dinatrium edetat 0,1 M, atur pH 7 dengan amonia 5 M, biarkan terpisah. Lapisan bawah untuk fase gerak.

**Larutan (1).** Sediaan uji 0,05% b/v.

**Larutan (2).** Standar klortetrasiklin hidroklorida 0,05% b/v.

**Larutan (3).** Standar demeklosiklin hidroklorida 0,05% b/v dan standar tetrasiklin hidroklorida 0,05% b/v.

Totolkan 1 µl secara terpisah dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan diudara. Paparkan pada uap amonia 13,5M. Periksa dengan cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (2). Bercak yang diperoleh dengan larutan (3) terlihat 4 bercak yang terpisah

- B. Pada 0,5 mg, tambah 2 ml asam sulfat, terjadi warna biru tua yang kemudian menjadi hijau kebiruan. Tambahkan 1 ml air, terjadi warna kecoklatan.
- C. Larutan 0,1% b/v membentuk endapan dengan larutan iodium dan dengan larutan trinitrofenol.
- D. Larutan sediaan 0,1% b/v dalam larutan dapar fosfat pH 7,6 jika dipanaskan pada suhu 100°C selama 1 menit berfluoresensi biru kuat bila dilihat dengan cahaya ultraviolet (365 nm).

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan menurut cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotika.

#### Penyimpanan

Dalam wadah, kedap dan terlindung dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Indikasi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

### Klortetrasiklin Tablet

#### Definisi

Klortetrasiklin tablet mengandung klortetrasiklin hidroklorida.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut.

Mengandung klortetrasiklin hidroklorida tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

- A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campurkan 200 ml campuran 2 volume etil asetat, 2 volume kloroform dan 1 volume aseton dengan 25 ml dinatrium edetat 0,1 M, atur pH 7 dengan amonia 5 M, biarkan terpisah. Lapisan bawah untuk fase gerak.

**Larutan (1).** Sediaan uji 0,05% b/v.

**Larutan (2).** Standar klortetrasiklin hidroklorida 0,05% b/v.

**Larutan (3).** Standar demeklosiklin hidroklorida 0,05% b/v dan standar tetrasiklin hidroklorida 0,05% b/v.

Totolkan 1 µl secara terpisah dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan diudara. Paparkan pada uap amonia 13,5 M. Periksa dengan cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (2). Bercak yang diperoleh dengan larutan (3) terlihat 4 bercak yang terpisah.

- B. Pada 0,5 mg, tambah 2 ml asam sulfat, terjadi warna biru tua yang kemudian menjadi hijau kebiruan. Tambahkan 1 ml air, terjadi warna kecoklatan.
- C. Larutan 0,1% b/v membentuk endapan dengan larutan iodium dan dengan larutan trinitrofenol.
- D. Larutan sediaan 0,1% b/v dalam larutan dapar fosfat pH 7,6 jika dipanaskan pada suhu 100°C selama 1 menit berfluoresensi biru kuat bila dilihat dengan cahaya ultraviolet (365 nm).

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan menurut cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotika.

#### Penyimpanan

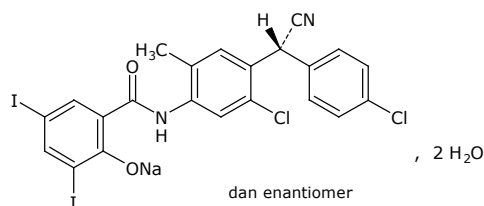
Dalam wadah, kedap dan terlindung dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Indikasi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

## Klosantel Natrium Dihidrat

*Closantel Sodium Dihydrate*



$C_{22}H_{13}Cl_2N_2NaO_2 \cdot 2H_2O$  BM: 721 [61438-64-0]

#### Definisi

Klosantel natrium dihidrat adalah N-[5-kloro-4-[(RS)-(4-klorofenil) sianometil]-2-metilfenil]-natrium 2-hidroksi-3,5-diiodobenzamid natrium dihidrat.

Mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,5% dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk berwarna kuning, sedikit higroskopik.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol (96%), larut dalam metanol. Terlihat polimorfism.

#### Identifikasi

- A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar klosantel natrium dihidrat.
- B. Larutkan 0,1 g dalam 2 ml etanol (96%). Larutan memberikan reaksi natrium.

**Kejernihan larutan.** Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar GY<sub>4</sub>. Larutkan 0,5 g dalam etanol (96%) sampai volume 50 ml.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

Siapkan larutan dengan segera sebelum digunakan dan lindungi dari cahaya.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,1g zat uji dalam metanol sampai batas volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg klosantel dalam metanol sampai batas volume 1,0 ml untuk kesesuaian sistem (mengandung ketidakmurnian A sampai J).

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dalam metanol sampai batas volume 100,0 ml. Ambil 5,0 ml dan encerkan dalam metanol sampai batas volume 25,0 ml.

**Kolom.** ODS 3 µm, ukuran: 0,10 m x 4,6 mm, suhu 35°C.

**Fase gerak A.** Pada 100 ml larutan amonium asetat (7,7 g/l) atur pH 4,3 dengan asam asetat, tambahkan 50 ml asetonitril dan 850 ml air.

**Fase gerak B.** Pada 100 ml larutan amonium asetat (7,7 g/l) atur pH 4,3 dengan asam asetat, tambahkan 50 ml air dan 850 ml asetonitril.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0—2	50	50
2—22	50 → 20	50 → 80
22—27	20	80
27—28	20 → 50	80 → 50
28—32	50	50

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 240 nm.

**Injek.** 10 µl.

**Waktu tambat relatif.** Klosantel sekitar 16 menit; ketidakmurnian A sekitar 0,07; ketidakmurnian B sekitar 0,48; ketidakmurnian C sekitar 0,62; ketidakmurnian D sekitar 0,65; ketidakmurnian E sekitar 0,82; ketidakmurnian F sekitar 0,89; ketidakmurnian G sekitar 0,93; ketidakmurnian H sekitar 1,13; ketidakmurnian I sekitar 1,16; ketidakmurnian J sekitar 1,55.

**Kesesuaian sistem.** Larutan standar (a) resolusi pemisahan garis dasar antara puncak ketidakmurnian

G dan klosantel pada kromatogram yang di peroleh sesuai dengan standar klosantel.

**Batas.** Faktor-koreksi perhitungan kadar, mengalikan area puncak ketidakhurnian berikut oleh faktor-koreksi yang sesuai; ketidakhurnian A 1,5; ketidakhurnian B 1,3; ketidakhurnian G tidak lebih dari 2,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%); ketidakhurnian F, H, I untuk setiap ketidakhurnian, tidak lebih dari 1,5 kali area puncak utama yang di peroleh dengan larutan standar (b) (0,3%); ketidakhurnian A, B, C, D, E, J: untuk setiap ketidakhurnian, tidak lebih dari area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,2%); ketidakhurnian lain: untuk setiap ketidakhurnian, tidak lebih dari area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,2%);

**Total.** Tidak lebih dari 7,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,5%);

**Abaikan batas.** 0,25 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%).

**Air.** 4,8%—5,8%. Gunakan 0,25 g.

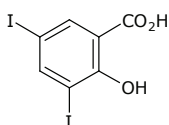
### Penetapan kadar

Larutkan 0,5 g dalam 50 ml campuran 1 volume asam asetat glasial dan 7 volume etil metil keton. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M, tentukan titik-akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 68,5 mg  $C_{22}H_{13}Cl_2I_2N_2NaO_2 \cdot 2H_2O$ .

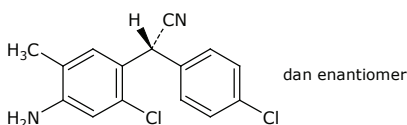
### Penyimpanan

Kedap udara, dilindungi dari cahaya.

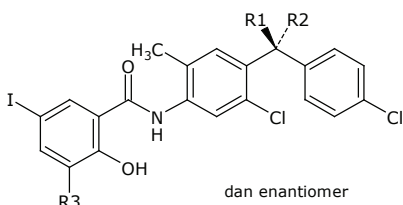
### Ketidakhurnian



A. Asam 2-hidroksi-3,5-diiodobenzoat.



B. (2RS)-(4-amino-2-kloro-5-metilfenil)(4-klorofenil)etanamin.



C. R1 = H, R2 = CO<sub>2</sub>H, R3 = I: Asam (2RS)-[2-kloro-4-[(2-hidroksi-3,5-diiodobenzoil)amino]-5-metilfenil](4-klorofenil)asetat.

D. R1 = H, R2 = CONH<sub>2</sub>, R3 = I: N-[4-[(1RS)-2-amino-1-(4-klorofenil)-2-oksoetil]-5-kloro-2-metilfenil]-2-hidroksi-3,5-diiodobenzamida.

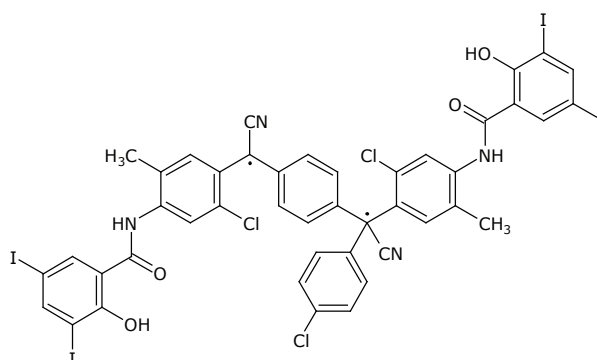
E. R1 = H, R2 = CN, R3 = Cl: 3-kloro-N-[5-kloro-4-[(RS)-(4-klorofenil)sianometil]-2-metilfenil]-2-hidroksi-5-iodobenzamida.

F. R1 + R2 = O, R3 = I: N-[5-kloro-4-(4-klorobenzoil)-2-metilfenil]-2-hidroksi-3,5-diiodobenzamida.

G. R1 = H, R2 = C(=NH)OCH<sub>3</sub>, R3 = I: Metil (2RS)-2-[2-kloro-4-[(2-hidroksi-3,5-diiodobenzoil)amino]-5-metilfenil]-2-(4-klorofenil)asetimidat.

H. R1 = H, R2 = CO-OCH<sub>3</sub>, R3 = I: Metil (2RS)-[2-kloro-4-[(2-hidroksi-3,5-diiodobenzoil)amino]-5-metilfenil](4-klorofenil)asetat.

I. R1 = R3 = H, R2 = CN: N-[5-kloro-4-[(RS)-(4-klorofenil)sianometil]-2-metilfenil]-2-hidroksi-5-iodobenzamida.



J. N-[5-kloro-4-[[4-[[2-kloro-4-[(2-hidroksi-3,5-diiodobenzoil)amino]-5-metilfenil]sianometil]fenil](4-klorofenil)sianometil]-2-metilfenil]-2-hidroksi-3,5-diiodobenzamida.

### Khasiat

Obat caceng.

## Kolistimetat Natrium

*Colistimethate Sodium*

### Definisi

Kolistimetat natrium dipersiapkan dari kolistin dengan aksi formalin dan natrium hidrogen sulfat. Mengandung tidak kurang dari 11.500 IU/mg, yang dihitung dengan standar terhadap standar kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih, higroskopis.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air, sukar larut dalam alkohol dan praktis tidak larut dalam aseton.

### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai. Paparkan lempeng pada uap fase gerak dalam tanki tidak kurang dari 12 jam.

**Fase gerak.** Campuran 75 bagian fenol dan 25 bagian air.

**Larutan uji (1).** Larutkan sediaan setara 5,0

mg kolistin sulfat dalam 5 ml campuran dengan volume yang sama dari asam hidroklorida dan air. Panaskan pada suhu 135°C selama 4 jam dalam tabung tertutup dan disealer. Evaporasi sampai mendekati kering diatas penangas air dan lanjutkan pemanasan sampai memberikan warna biru pada kertas litmus. Larutkan residu dalam 0,5 ml air.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar leusin dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar treonin dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar fenilalanin dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar serin dengan air sampai volume 10 ml.

Totolkan 10 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 105°C. Semprot dengan larutan ninhidrin dan panaskan pada suhu 110°C selama 5 menit.

Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai dengan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (a) dan (b), tetapi tidak ada bercak yang sesuai dengan yang diperoleh larutan (c) dan (d). Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (a) dengan nilai Rf yang rendah (asam 2,4-diaminobutirat)

- B. Larutkan sediaan setara 5,0 mg dalam 3 ml air. Tambah 3 ml natrium hidrokksida encer. Aduk dan tambah 0,5 ml larutan tembaga sulfat (10g/l). Terbentuk warna violet.
- C. Larutkan 50 mg dalam 1 ml asam klorida dan tambah 0,5 ml iodum 0,01M, berubah menjadi tidak berwarna dan memberikan reaksi sulfat.
- D. Memberikan reaksi natrium.

**Kejernihan larutan.** Larutkan 0,16 g dalam 10 ml air. Larutan jernih.

**pH.** Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam air bebas karbondioksida sampai volume 10. pH 6,5—8,5.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 1,25 g dalam air sampai rotasi jensi antara -46° sampai -51°, dihitung dengan standar kering.

**Kolistin bebas.** Larutkan 80 mg dalam 3 ml air. Tambah 0,1 ml asam silikotungstat (100 g/l), biarkan selama 10—20 detik. Larutan tidak lebih opalesen dari larutan standar.

**Total sulfat.** Larutkan 0,10 g dalam 50 ml of air dan tambah 5 ml natrium hidrokksida (100 g/l) dan 0,3 g kalium sianida. Didihkan selama 3 menit dan dinginkan. Neutralkan dengan asam sulfat 0,5M menggunakan 0,2 ml metil jingga sebagai indikator. Lebihkan dengan 0,5 ml asam dan 0,2 g kalium iodida. Titrasi dengan iodium 0,05M menggunakan 1 ml larutan kanji sebagai indikator. Volume iodium 0,05M yang digunakan adalah 5,5—7,0 ml.

**Susut pengeringan.** 5,0%, gunakan 1,0 g. Panaskan

dengan suhu 60°C di atas fosfor pentoksida dengan tekanan tidak lebih dari 0,70 kPa selama 3 jam.

**Abu sulfat.** 16%—21%, gunakan 0,5 g.

**Pirogen.** Injek 2,5 mg/kb berat badan kelinci.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi menurut cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotika.

#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup kedap dan terlindung dari cahaya.

## Kolistimetat Injeksi

#### Definisi

Kolistimetat injeksi adalah larutan steril kolistimetat natrium dalam infus intravena natrium klorida. Dipersiapkan dengan melarutkan dalam sejumlah infus intravena natrium klorida.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai. Paparkan lempeng pada uap fase gerak dalam tanki tidak kurang dari 12 jam.

**Fase gerak.** Campuran 75 bagian fenol dan 25 bagian air.

**Larutan uji (1).** Larutkan sediaan setara 5,0 mg kolistin sulfat dalam 5 ml campuran dengan volume yang sama dari asam hidroklorida dan air. Panaskan pada suhu 135°C selama 4 jam dalam tabung tertutup dan disealer. Evaporasi sampai mendekati kering diatas penangas air dan lanjutkan pemanasan sampai memberikan warna biru pada kertas litmus. Larutkan residu dalam 0,5 ml air.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar leusin dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar treonin dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar fenilalanin dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar serin dengan air sampai volume 10 ml.

Totolkan 10 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 105°C. Semprot dengan larutan ninhidrin dan panaskan pada suhu 110°C selama 5 menit.

Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai dengan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (a) dan (b), tetapi tidak ada bercak yang sesuai dengan yang diperoleh larutan (c)

dan (d). Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (a) dengan nilai R<sub>f</sub> yang rendah (asam 2,4-diaminobutirat).

**Keasaman-kebasaan.** Larutkan sediaan dalam air bebas karbondioksida sampai mengandung 125.000 IU/ml pH 6,5—8,5 (ukur dalam rentang waktu 30 menit).

**Kolistin bebas.** Larutkan sediaan setara 1.000.000 IU dalam 3 ml air, tambah 0,1 ml asam silikotungstat 10% b/v. Biarkan selama 10—20 detik. Larutan tidak lebih opalesen dibanding dengan larutan sntadar.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%, gunakan 1 g. Panaskan diatas fosfor pentoksida pada suhu 60°C dan tekanan tidak lebih dari 0,7 kPa selama 3 jam.

**Endotoksin bakteri.** Larutkan sediaan dalam air sampai konsentrasi 125.000 IU/ml (larutan A). Kandungan endotoksin bakteri 43,75 IU endotoksin/ml.

**Penetapan potensi/kadar**

Lakukan penetapan potensi menurut cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotika.

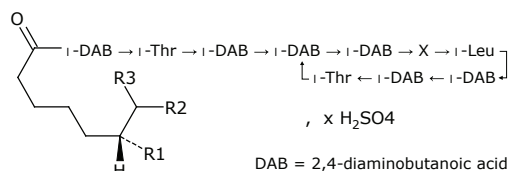
**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Untuk injeksi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

**Kolistin Sulfat**  
*Colistin Sulphate*



Polimiksin	X	R1	R2	R3	Rumus Mol.	M <sub>r</sub>
E1	D-Leu	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	C <sub>53</sub> H <sub>100</sub> N <sub>16</sub> O <sub>13</sub>	1170
E2	D-Leu	CH <sub>3</sub>	H	H	C <sub>52</sub> H <sub>96</sub> N <sub>16</sub> O <sub>13</sub>	1155
E3	D-Leu	H	CH <sub>3</sub>	H	C <sub>52</sub> H <sub>96</sub> N <sub>16</sub> O <sub>13</sub>	1155
E1-I	D-Ile	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	C <sub>53</sub> H <sub>100</sub> N <sub>16</sub> O <sub>13</sub>	1170
E1-7MOA	D-Leu	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	C <sub>53</sub> H <sub>100</sub> N <sub>16</sub> O <sub>13</sub>	1170

[1264-72-8]

**Definisi**

Kolistin sulfat adalah campuran sulfat dari polipeptid yang diproduksi oleh bakteri strain *Bacillus polymyxa* var. *colistinus* atau dengan cara lain.

Mengandung perjumlah dari polimiksin E1, E2, E3, E1-I dan E1-7MOA, tidak kurang dari 77% dari zat kering.

Mengandung polimiksin E1-I tidak lebih dari 10,0% dari zat kering.

Mengandung polimiksin E1-7MOA tidak lebih dari 10,0% dari zat kering.

Mengandung polimiksin E3 tidak lebih dari 10,0% dari zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk putih, higroskopis.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, sukar larut dalam etanol (96%) dan praktis tidak larut dalam aseton.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: B, E.

Identifikasi kedua: A, C, D, E.

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai. Paparkan lempeng pada uap fase gerak dalam tanki tidak kurang dari 12 jam.

**Fase gerak.** Campuran 75 bagian fenol dan 25 bagian air.

**Larutan uji (1).** Larutkan sediaan setara 5,0 mg kolistin sulfat dalam 5 ml campuran dengan volume yang sama dari asam hidroklorida dan air. Panaskan pada suhu 135°C selama 4 jam dalam tabung tertutup dan disealer. Evaporasi sampai mendekati kering diatas penangas air dan lanjutkan pemanasan sampai memberikan warna biru pada kertas litmus. Larutkan residu dalam 0,5 ml air.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar leusin dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar treonin dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar fenilalanin dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar serin dengan air sampai volume 10 ml.

Totolkan 10 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 105°C. Semprot dengan larutan ninhidrin dan panaskan pada suhu 110°C selama 5 menit.

Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai dengan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (a) dan (b), tetapi tidak ada bercak yang sesuai dengan yang diperoleh larutan (c) dan (d). Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (a) dengan nilai R<sub>f</sub> yang rendah (asam 2,4-diaminobutirat).

B. Periksa kromatogram yang diperoleh pada penetapan potensi/kadar. Puncak polimiksin E1 dan polimiksin E2 pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji mempunyai waktu tambat dengan puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a).

C. Larutkan sediaan setara 5,0 mg dalam 3 ml air. Tambah 3 ml natrium hidroksida encer. Aduk dan tambah 0,5 ml larutan tembaga sulfat (10g/l). Terbentuk warna violet.

D. Larutkan 40 mg dalam 1 ml asam klorida dan tambah 0,5 ml iodum 0,01 M, warna tidak berubah (perbedaan dari kolistin sulfometat natrium).

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 1,25 g dalam air sampai volume 25 ml. Rotasi jenis antara  $-63^\circ$  sampai  $-73^\circ$  (zat kering).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 25,0 mg dalam 40 ml air dan encerkan dengan asetonitril sampai volume 50 ml

**Larutan standar (a).** Larutkan standar kolistin sulfat dalam 40 ml air dan encerkan dengan asetonitril sampai volume 50 ml.

**Larutan standar (b).** Encekan 1,0 ml larutan standar (a) dengan campuran 20 volume asetonitril dan 80 volume air sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 3,5  $\mu\text{m}$ , ukuran 15 cm x 4,6 mm atau yang sesuai dengan suhu  $30^\circ\text{C}$ .

**Fase gerak.** Campur 22 volume asetonitril dan 78 volume larutan yang dipersiapkan dengan melarutkan 4,46 g natrium sulfat anhidrat dalam 900 ml air, atur pH 2,4 dengan asam fosfat dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 215 nm.

**Injek.** 20  $\mu\text{l}$ .

**Waktu uji.** 1,5 kali waktu tambat polimiksin E1.

**Waktu tambat relative terhadap polimiksin E1 (waktu tambat sekitar 16 menit).** Polimiksin E2 sekitar 0,45; polimiksin E3 sekitar 0,5; polimiksin E1-I sekitar 0,8; polimiksin E1-7MOA sekitar 1,1.

#### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (a).** Resolusi minimum 8,0 antara puncak polimiksin E2 dan polimiksin E1; minimum 6,0 antara puncak polimiksin E2 dan polimiksin E1-I; minimum 2,5 antara puncak polimiksin E1-I dan polimiksin E1; minimum 1,5 antara puncak polimiksin E1 dan polimiksin E1-7MOA.

Kromatogram yang diperoleh sama dengan kromatogram standar kolistin sulfat.

#### Batas

**Ketidakhurnian.** Maksimum 4,0%.

**Total.** Maksimum 23,0%.

**Abaikan batas.** Area puncak polimiksin E1 pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b); Abaikan puncak polimiksin E2, E3, E1-I, E1 dan E1-7MOA.

**Sulfat.** 16,0%—18,0% (zat kering). Larutkan 0,25 g dalam 100 ml air atur pH 11 dengan amoniak pekat. Tambah 10,0 ml barium klorida 0,1 M dan sekitar 0,5 mg ungu ftalein. Titrasi dengan natrium edetat 0,1 M, tambahkan 50 ml etanol (96%) ketika warna berubah dan lanjutkan titrasi sampai warna violet-biru hilang.

Setiap ml barium klorida 0,1 M setara 9,606 mg  $\text{SO}_4$ .

**Susut pengeringan.** Maksimum 3,5%, gunakan 1,0 g. Panaskan pada suhu  $60^\circ\text{C}$  diatas fosfor pentoksida dengan tekanan 0,70 kPa selama 3 jam.

**Abu sulfat.** Maksimum 1,0%, gunakan 1,0 g.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi menurut cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.

2. Dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan sediaan setara 25 mg kolistin sulfat dalam 40 ml air dan encerkan dengan asetonitril sampai volume 50 ml.

**Larutan standar.** Larutkan 25 mg standar kolistin sulfat dalam 40 ml air dan encerkan dengan asetonitril sampai volume 50 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil ukuran 15 cm x 4,6 mm dengan suhu  $30^\circ\text{C}$ .

**Fase gerak.** Campuran 22 volume asetonitril dan 78 volume larutan yang dibuat dengan melarutkan 4,46 g asam sulfat anhidrat dalam 900 ml air, atur pH 2,4 dengan asam fosfat dan encerkan dengan air sampai volume 1000 ml.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 215 nm.

**Injek.** 20  $\mu\text{l}$  dari larutan standar dan uji.

Hitung % kadar polimiksin E1, E1-I dan E1-7MOA dan % kadar dari penjumlahan polimiksin E2, E3, E1-I, E1 dan E1-7MOA dengan rumus:

$$C_{Ei} = \frac{A_{Ei} \times m_2 \times D_{Ei}}{m_1 \times B_{Ei}}$$

Keterangan:

$C_{Ei}$  = % polimiksin Ei

$A_{Ei}$  = area puncak polimiksin E pada kromatogram dengan larutan uji

$m_1$  = berat zat uji (mg) dalam larutan uji

$B_{Ei}$  = area puncak polimiksin Ei pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar

$m_2$  = berat standar kolistin sulfat (mg) dalam larutan standar

$D_{Ei}$  = kandungan (%) untuk standar polimiksin Ei

#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup kedap dan terlindung dari cahaya.

#### Khasiat

Antibiotik.

## Kolistin Serbuk Oral

### Definisi

Kolistin serbuk oral mengandung kolistin sulfat.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral.

Mengandung kolistin sulfat tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai. Paparkan lempeng pada uap fase gerak dalam tanki tidak kurang dari 12 jam.

**Fase gerak.** Campuran 75 bagian fenol dan 25 bagian air.

**Larutan uji (1).** Larutkan sediaan setara 5,0 mg kolistin sulfat dalam 5 ml campuran dengan volume yang sama dari asam hidroklorida dan air. Panaskan pada suhu 135°C selama 4 jam dalam tabung tertutup dan disealer. Evaporasi sampai mendekati kering diatas penangas air dan lanjutkan pemanasan sampai memberikan warna biru pada kertas litmus. Larutkan residu dalam 0,5 ml air.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar leusin dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar treonin dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar fenilalanin dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar serin dengan air sampai volume 10 ml.

Totolkan 10 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 105°C. Semprot dengan larutan ninhidrin dan panaskan pada suhu 110°C selama 5 menit.

Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai dengan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (a) dan (b), tetapi tidak ada bercak yang sesuai dengan yang diperoleh larutan (c) dan (d). Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (a) dengan nilai Rf yang rendah (asam 2,4-diaminobutirat).

B. Periksa kromatogram yang diperoleh pada penetapan potensi/kadar. Puncak polimiksin E1 dan polimiksin E2 pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji mempunyai waktu tambat dengan puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a).

C. Larutkan sediaan setara 5,0 mg kolistin sulfat dalam 3 ml air. Tambah 3 ml natrium hidroksida encer. Aduk dan tambah 0,5 ml larutan tembaga sulfat (10 g/l). Terbentuk warna violet.

D. Larutkan 40 mg dalam 1 ml asam klorida dan

tambah 0,5 ml iodum 0,01 M, warna tidak berubah (perbedaan dari kolistin sulfometat natrium).

E. Memberikan reaksi sulfat.

### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi menurut cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotika.
2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan sediaan setara 25 mg kolistin sulfat dalam 40 ml air dan encerkan dengan asetonitril sampai volume 50 ml.

**Larutan standar.** Larutkan 25 mg standar kolistin sulfat dalam 40 ml air dan encerkan dengan asetonitril sampai volume 50 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil ukuran 15 cm x 4,6 mm dengan suhu 30°C.

**Fase gerak.** Campuran 22 volume asetonitril dan 78 volume larutan yang dibuat dengan melarutkan 4,46 g asam sulfat anhidrat dalam 900 ml air, atur pH 2,4 dengan asam fosfat dan encerkan dengan air sampai volume 1000 ml.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 215 nm.

**Injek.** 20 µl dari larutan standar dan uji.

Hitung % kadar polimiksin E1, E1-I dan E1-7MOA dan % kadar dari penjumlahan polimiksin E2, E3, E1-I, E1 dan E1-7MOA dengan rumus:

$$C_{Ei} = \frac{A_{Ei} \times m_2 \times D_{Ei}}{m_1 \times B_{Ei}}$$

Keterangan:

$C_{Ei}$  = % polimiksin Ei

$A_{Ei}$  = area puncak polimiksin E pada kromatogram dengan larutan uji

$m_1$  = berat zat uji (mg) dalam larutan uji

$B_{Ei}$  = area puncak polimiksi Ei pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar

$m_2$  = berat standar kolistin sulfat (mg) dalam larutan standar

$D_{Ei}$  = kandungan (%) untuk standar polimiksin Ei.

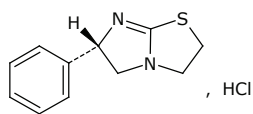
### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Indikasi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.



**Levamisol Hidroklorida***Levamisole Hydrochloride* $C_{11}H_{12}N_2S$ , HCl

BM: 240,8

[16595-80-5]

**Definisi**

Levamisol hidroklorida adalah (6S)-6-fenil-2,3,5,6-tetrahidroimidazo[2,1-b]tiazol hidroklorida.

Mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, larut dalam alkohol, sukar larut dalam metilen klorida.

**Identifikasi**

- Memenuhi uji rotasi jenis (lihat uji rotasi jenis).
- Spektrum serapan inframerah sama dengan spektrum serapan standar levamisol hidroklorida.
- Memberikan reaksi klorid.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 50,0 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar Y<sub>7</sub>.

**pH.** Larutan S adalah 3,0—4,5.

**Rotasi jenis.** -121° sampai -128° (zat kering). Gunakan larutan S.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

Siapkan larutan dengan segera sebelum menggunakan, melindungi dari cahaya dan tetap di bawah 25°C.

**Larutan uji.** Larutkan 0,1 g zat uji dalam metanol, tambahkan 1,0 ml amoniak pekat dan encerkan dengan metanol sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 50 mg standar kesesuaian sistem levamisol hidroklorida dalam metanol, tambahkan 1,0 ml amoniak pekat dan encerkan dengan metanol sampai volume 5,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan metanol sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 5,0 ml larutan dengan metanol sampai batas volume 25,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil (basa tidak aktif) 3 µm, ukuran 0,10 m x 4,6 mm.

**Fase gerak A.** Larutkan 0,5 g amonium dihidrogen fosfat dalam 90 ml air, atur pH 6,5 dengan natrium hidroksida (40 g/l) dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Fase gerak B.** Asetonitril.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0—8	90 → 30	10 → 70
8—10	30	70
10—11	30 → 90	70 → 10

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 215 nm.

**Ekuilibraasi.** Sedikitnya 4 menit dengan komposisi fase gerak.

**Injek.** 10 µl.

**Waktu tambat relatif.** Levamisol sekitar 3 menit, ketidakhurnian A sekitar 0,9, ketidakhurnian B sekitar 1,4, ketidakhurnian C sekitar 1,5, ketidakhurnian D sekitar 1,6, ketidakhurnian E sekitar 2,0.

**Kesesuaian sistem**

**Larutan standar (a).** Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama yang diperoleh dengan standar kesesuaian sistem levamisol hidroklorida.

**Batas:**

**Faktor-koreksi.** Mengalikan area puncak ketidakhurnian berikut oleh faktor-koreksi ketidakhurnian A = 2,0, ketidakhurnian B = 1,7, ketidakhurnian C = 2,9, ketidakhurnian D = 1,3, ketidakhurnian E = 2,7.

**Ketidakhurnian A, B, C, D, E.** Untuk setiap ketidakhurnian, tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,2%).

**Ketidakhurnian lain.** Tidak lebih dari setengah area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,1%).

**Total.** Tidak lebih dari 1,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,3%).

**Abaikan batas.** 0,25 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%).

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Pada 12 ml memenuhi uji batas.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5% pada pengeringan dengan suhu 105°C. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

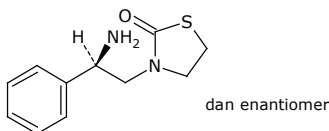
**Penetapan kadar**

Larutkan 0,2 g dalam 30 ml alkohol dan tambahkan 5,0 ml asam hidroklorida 0,01 M. Lakukan titrasi secara potensiometrik, gunakan natrium hidroksida 0,1 M. Catat volume yang ditambahkan antara 2 titik infleksi.

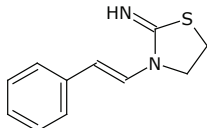
Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 24,08 mg C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>ClN<sub>2</sub>S.

**Penyimpanan**

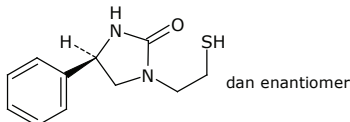
Dilindungi dari cahaya.

**Ketidakmurnian**

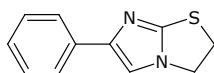
A. 3-[(2RS)-2-amino-2-feniletill]tiazolidin-2-on.



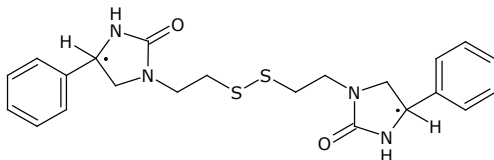
B. 3-[(E)-2-feniletill]tiazolidin-2-imina.



C. (4RS)-4-fenil-1-(2-sulfaniletill)imidazolidin-2-on.



D. 6-fenil-2,3-dihidroimidazo[2,1-b]tiazol.



E. 1,1'-[(disulfan-1,2-diil)bis(etilil)]bis[(4RS)-4-fenilimidazolidin-2-on].

**Khasiat**

Obat cacing.

**Levamisol Injeksi****Definisi**

Levamisol injeksi adalah larutan steril dari levamisol hidroklorida dalam air untuk injeksi. Dapat mengandung bahan pewarna yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung levamisol hidroklorida  $C_{11}H_{12}N_2S \cdot HCl$  tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika G.

**Fase gerak.** Campuran dari 100 volume etil asetat, 10 volume metanol dan 1 volume amoniak 13,5 M.

**Larutan (1).** Sediaan levamisol hidroklorida 1% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Standar levamisol 1% b/v dalam metanol.

Totolkan 1  $\mu$ l dari setiap larutan. Angkat lempeng, keeringkan di udara dan semprot dengan kalium

iodoplatinat. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan yang diperoleh dengan larutan (2).

B. Encerkan sediaan, setara 0,75 g levamisol hidroklorida dalam 20 ml dengan air dan tambahkan 6 ml natrium hidroksida 1 M. Ekstrak dengan 20 ml diklorometan, buang lapisan air dan bilas lapisan diklorometan dengan 10 ml air. Kocok dengan natrium sulfat anhidrat, saring dan uapkan diklorometan pada suhu ruang. Jarak lebur residu, setelah pengeringkan diatas fosfor pentoksida pada tekanan 1,5—2,5 kPa pada suhu tidak melebihi 40°C, sekitar 59°C.

C. Injeksi adalah laevorotatori.

D. Memberikan reaksi klorida.

**Keasaman.** pH 3,0—4,0.

**2,3-Dihidro-6-fenilimidazo[2,1-b]tiazol hidroklorida.**

Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika G.

**Fase gerak.** Campuran 8 volume asam asetat glasial, 16 volume metanol dan 90 volume toluen.

**Larutan (1).** Sediaan levamisol hidroklorida 5,0% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Standar 2,3-dihidro-6-fenilimidazo[2,1-b]tiazol 0,021% b/v dalam metanol.

Totolkan 10  $\mu$ l dari larutan. Angkat lempeng, keringkan di udara dan semprot dengan kalium iodoplatinat. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan 2,3-dihidro-6-fenilimidazo[2,1-b]tiazol dan tidak lebih kuat dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (0,5%).

**Penetapan kadar**

Pada sediaan, setara 0,75 g dari levamisol hidroklorida tambahkan 50 ml air dan 15 ml natrium hidroksida 2 M, ekstraksi 3 kali, masing-masing 25, 20 dan 15 ml kloroform dan bilas ekstrak dua kali, masing-masing 10 ml air. Tambahkan 50 ml asam asetat anhidrat pada ekstrak. Lakukan titrasi bebas air, menggunakan 1-naftolbenzen sebagai indikator. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 24,08 mg  $C_{11}H_{12}N_2S \cdot HCl$ .

**Penyimpanan**

Levamisol injeksi harus dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Indikasi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

**Levamisol Larutan Oral****Definisi**

Levamisol larutan oral mengandung levamisol hidroklorida dalam pembawa yang sesuai.

Larutan oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan larutan oral dan persyaratan berikut:

Mengandung levamisol hidroklorida tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%, dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran dari 100 volume etil asetat, 10 volume metanol dan 1 volume amoniak 13,5M.

**Larutan (1).** Sediaan levamisol hidroklorida 1% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Standar levamisol 1% b/v dalam metanol.

Totolkan 1 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng, keeringkan di udara dan semprot dengan kalium iodoplatinat. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan yang diperoleh dengan larutan (2).

B. Encerkan sediaan, setara 0,75 g levamisol hidroklorida dalam 20 ml dengan air dan tambahkan 6 ml natrium hidroksida 1M. Ekstrak dengan 20 ml diklorometan, buang lapisan air dan bilas lapisan diklorometan dengan 10 ml air. Kocok dengan natrium sulfat anhidrat, saring dan uapkan diklorometan pada suhu ruang. Jarak lebur residu, setelah pengeringkan diatas fosfor pentoksida pada tekanan 1,5—2,5 kPa pada suhu tidak melebihi 40°C, sekitar 59°C.

C. Memberikan reaksi klorida.

**Keasaman.** pH 3,0—4,0.

**2,3-Dihidro-6-fenilimidazo[2,1-b]tiazol hidroklorida.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika G.

**Fase gerak.** Campuran 8 volume asam asetat glasial, 16 volume metanol dan 90 volume toluen.

**Larutan (1).** Sediaan levamisol hidroklorida 5,0% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Standar 2,3-dihidro-6-fenilimidazo[2,1-b]tiazol 0,021% b/v dalam metanol.

Totolkan 10 µl dari larutan. Angkat lempeng, keeringkan di udara dan semprot dengan kalium iodoplatinat. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan 2,3-dihidro-6-fenilimidazo[2,1-b]tiazol dan tidak lebih kuat dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (0,5%).

### Penetapan kadar

Pada sediaan, setara 0,75 g dari levamisol hidroklorida tambahkan 50 ml air dan 15 ml natrium hidroksida 2M, ekstraksi 3 kali, masing-masing 25, 20 dan 15 ml kloroform dan bilas ekstrak dua kali, masing-masing 10 ml air. Tambahkan 50 ml asam asetat anhidrat pada ekstrak. Lakukan titrasi bebas air, menggunakan 1-naftolbenzen sebagai indikator. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 24,08 mg C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>S.HCl.

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Indikasi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

## Levamisol Serbuk Oral

### Definisi

Levamisol serbuk oral mengandung levamisol hidroklorida. Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut: Mengandung levamisol hidroklorida tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%, dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran dari 100 volume etil asetat, 10 volume metanol dan 1 volume amoniak 13,5M.

**Larutan (1).** Sediaan levamisol hidroklorida 1% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Standar levamisol 1% b/v dalam metanol.

Totolkan 1 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng, keringkan di udara dan semprot dengan kalium iodoplatinat. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan yang diperoleh dengan larutan (2).

B. Encerkan sediaan, setara 0,75 g levamisol hidroklorida dalam 20 ml dengan air dan tambahkan 6 ml natrium hidroksida 1M. Ekstrak dengan 20 ml diklorometan, buang lapisan air dan bilas lapisan diklorometan dengan 10 ml air. Kocok dengan natrium sulfat anhidrat, saring dan uapkan diklorometan pada suhu ruang. Jarak lebur residu, setelah pengeringkan diatas fosfor pentoksida pada tekanan 1,5—2,5 kPa pada suhu tidak melebihi 40°C, sekitar 59°C.

C. Memberikan reaksi klorida.

**2,3-Dihidro-6-fenilimidazo[2,1-b]tiazol hidroklorida.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika G.

**Fase gerak.** Campuran 8 volume asam asetat glasial, 16 volume metanol dan 90 volume toluen.

**Larutan (1).** Sediaan levamisol hidroklorida 5,0% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Standar 2,3-dihidro-6-fenilimidazo[2,1-b]tiazol 0,021% b/v dalam metanol.

Totolkan 10 µl dari larutan. Angkat lempeng, keringkan di udara dan semprot dengan kalium iodoplatinat. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan 2,3-dihidro-6-fenilimidazo[2,1-b]

tiazol dan tidak lebih kuat dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (0,5%).

#### Penetapan kadar

Pada sediaan, setara 0,75 g dari levamisol hidroklorida tambahkan 50 ml air dan 15 ml natrium hidroksida 2M, ekstraksi tiga kali, masing-masing 25, 20 dan 15 ml kloroform dan bilas ekstrak dua kali, masing-masing 10 ml air. Tambahkan 50 ml asam asetat glasial pada ekstrak. Lakukan titrasi bebas air, menggunakan 1-naftolbenzen sebagai indikator. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 24,08 mg  $C_{11}H_{12}N_2S, HCl$ .

#### Penyimpanan

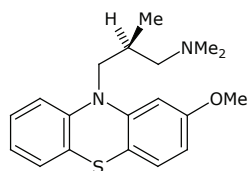
Dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Indikasi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

## Levomepromazin

*Levomepromazine*



dan enantiomer

$C_{19}H_{24}N_2OS$

BM: 328,5

[60-99-1]

#### Definisi

Levomepromazin adalah (R)-3-(2-metoksifenotiazin-10-il)-2-metilpropil dimetilamin.

Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari  $C_{19}H_{24}N_2OS$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau sedikit berwarna krem.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air; sukar larut dalam etanol (96%); mudah larut dalam eter.

#### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar levomepromazin.
- Serapan cahaya, pada panjang gelombang 230—350 nm dari larutan 0,001% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M, serapan maksimum pada panjang gelombang 250 nm dan 300 nm, sekitar 0,75.
- Memenuhi identifikasi dari fenotiazin, menggunakan standar levomepromazin (2).
- Larutkan sekitar 5 mg dalam 2 ml asam sulfat dan biarkan selama 5 menit. Terbentuk warna ungu.

**Suhu lebur.** 124° sampai 127°C.

**Rotasi jenis.** Larutan 5% b/v dalam kloroform, -15° sampai -18°, dihitung terhadap zat kering.

**Senyawa sejenis.** Memenuhi uji senyawa sejenis fenotiazin, gunakan fase gerak C.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5% pada pengeringan dengan suhu 105°C. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.

#### Penetapan kadar

Larutkan 1 g dalam 200 ml aseton dan lakukan titrasi bebas air, menggunakan 3 ml metil jingga dalam aseton sebagai indikator. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 32,85 mg  $C_{19}H_{24}N_2OS$ .

#### Penyimpanan

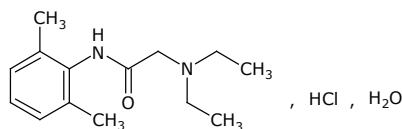
Levomepromazin harus dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Trankuilliser.

## Lidokain Hidroklorida

*Lidocaine Hydrochloride*



$C_{14}H_{22}N_2O$ , HCl, H<sub>2</sub>O

BM: 288,8

[6108-05-0]

#### Definisi

Lidokain hidroklorida mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari 2-(diethylamino)-N-(2,6-dimetilfenil)asetamida hidroklorida, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Sangat larut dalam air, mudah larut dalam alkohol.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B, F.

Identifikasi kedua: A, C, D, E, F.

- Suhu lebur 74°—79°C, Ditentukan tanpa pengeringan terlebih dahulu.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar lidokain hidroklorida.
- Larutkan 0,2 g dalam 10 ml air dan tambah 10 ml asam pikrat. Bilas endapan dengan air dan keringkan. Meleleh sekitar 230°C.
- Pada 5 mg tambah 0,5 ml asam nitrat. Evaporasi sampai kering diatas penangas air, dinginkan dan larutkan residu dalam 5 ml aseton. Tambah 0,2 ml kalium hidroksida-alkohol. Terbentuk warna hijau.
- Pada 5 ml larutan S tambah 5 ml air dan buat alkali dengan natrium hidroksida encer. Bilas endapan dengan air. Larutkan sebagian endapan dalam 1 ml alkohol dan tambah 0,5 ml kobalt nitrat (100 g/l). Terbentuk endapan hijau.

F. Memberikan reaksi klorida.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 20 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih tidak berwarna.

**pH.** Encerkan 1 ml larutan S dengan air bebas karbon-dioksida sampai 10 ml. pH 4,0—5,5.

#### Ketidakhurnian A

**Larutan (a).** Larutkan dan encerkan 0,25 g zat uji dalam metanol sampai volume 10 ml. Larutan untuk persiapan larutan uji.

**Larutan (b).** Larutkan dan encerkan 50 mg 2,6-dimetil-anilin dalam metanol sampai volume 100 ml. Encerkan 1 ml dengan metanol sampai batas volume 100 ml. Larutan untuk persiapan larutan standar.

Gunakan 3 tabung. Pindahkan 2 ml larutan (a) ke dalam tabung-1 dan 1 ml larutan b dan 1 ml metanol ke dalam tabung-2 serta 2 ml metanol kedalam tabung-3 (blank).

Pada masing-masing tabung, tambah larutan segar dimetilaminobenzaldehida (10 g/l) dalam metanol dan 2 ml asam asetat glasial. Biarkan dalam suhu kamar selama 10 menit. Intensitas warna kuning pada larutan uji diantara intensitas warna pada blank dan larutan standar (100 ppm).

**Logam berat.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam air sampai volume 25 ml dan saring. Pada 10 ml hasil saringan, memenuhi uji batas logam berat (5 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (1 ppm Pb).

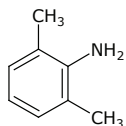
**Air.** 5,5%—7,0%. Gunakan 0,25 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%, gunakan 1,0 g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,22 g dalam 50 ml alkohol dan tambah 5,0 ml asam hidroklorida 0,01 M. Lakukan titrasi potensiometrik, menggunakan natrium hidroksida 0,1 M. Baca volume yang ditambahkan antara 2 infleksi. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara 27,08 mg  $C_{14}H_{23}ClN_2O$ .

#### Ketidakhurnian



2,6-Dimetilanilin.

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Anestetik.

## Lidokain Injeksi

#### Definisi

Lidokain injeksi adalah mengandung lidokain hidroklorida dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratn berikut:

Mengandung lidokain hidroklorida, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B, F.

Identifikasi kedua: A, C, D, E, F.

- Suhu lebur  $74^{\circ}$ — $79^{\circ}$ C, ditentukan tanpa penge-ringan terlebih dahulu.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spek-trum serapan standar lidokain hidroklorida.
- Larutkan 0,2 g dalam 10 ml air dan tambah 10 ml asam pikrat. Bilas endapan dengan air dan keringkan. Meleleh sekitar  $230^{\circ}$ C.
- Pada 5 mg tambah 0,5 ml asam nitrat. Evaporasi sampai kering diatas penangas air, dinginkan dan larutkan residu dalam 5 ml aseton. Tambah 0,2 ml kalium hidroksida-alkohol. Terbentuk warna hijau.
- Pada 5 ml larutan S tambah 5 ml air dan buat alkali dengan natrium hidroksida encer. Bilas endapan dengan air. Larutkan sebagian endapan dalam 1 ml alkohol dan tambah 0,5 ml kobalt nitrat (100 g/l). Terbentuk endapan hijau.

F. Memberikan reaksi klorida.

**pH.** 4,0—5,5.

#### Ketidakhurnian A

**Larutan (a).** Larutkan dan encerkan 0,25 g zat uji dalam metanol sampai volume 10 ml. Larutan untuk persiapan larutan uji.

**Larutan (b).** Larutkan dan encerkan 50 mg 2,6-dimetil-anilin dalam metanol sampai volume 100 ml. Encerkan 1 ml dengan metanol sampai batas volume 100 ml. Larutan untuk persiapan larutan standar.

Gunakan 3 tabung. Pindahkan 2 ml larutan (a) ke dalam tabung-1 dan 1 ml larutan b dan 1 ml metanol ke dalam tabung-2 serta 2 ml metanol kedalam tabung-3 (blank).

Pada masing-masing tabung, tambah larutan segar dimetilaminobenzaldehida (10 g/l) dalam metanol dan 2ml asam asetat glasial. Biarkan dalam suhu lamar selama 10 menit. Intensitas warna kuning pada larutan uji diantara intensitas warna pada blank dan larutan standar (100 ppm).

**Logam berat.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam air sampai volume 25 ml dan saring. Pada 10 ml hasil saringan, memenuhi uji batas logam berat (5 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (1 ppm Pb).

#### Penetapan kadar

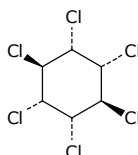
Larutkan 0,22 g dalam 50 ml alkohol dan tambah 5,0 ml asam hidroklorida 0,01 M. Lakukan titrasi potensiometrik, menggunakan natrium hidroksida 0,1 M. Baca volume yang ditambahkan antara 2 infleksi. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara 27,08 mg  $C_{14}H_{23}ClN_2O$ .

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Untuk injeksi, 3) Kadaluwarsa, 4) Kondisi penyimpanan.

**Lindan***Lindane* $C_6H_6Cl_6$ 

BM: 290,8

[58-89-9]

**Definisi**

Lindan mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5% dari r-1,c-2,t-3,c-4,c-5,t-6-heksaklorosikloheksan.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam aseton dan larut dalam etanol.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: A, C, D.

A. Suhu lebur  $112^{\circ}$ — $115^{\circ}$ C.

B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar lindan.

C. Pada kromatogram yang diperoleh dalam uji senyawa sejenis. bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) serupa pada tempat, warna dan ukuran dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

D. Larutkan 5 mg dalam 4 ml alkohol. Tambahkan 1 ml kalium hidroksida-alkohol 0,5 M. Biarkan selama 10 menit. Larutan memberikan reaksi klorida.

**Kejernihan larutan.** Larutkan dan encerkan 0,50 g dalam aseton sampai batas volume 10 ml. Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar B<sub>7</sub>.

**Senyawa sejenis.** Lakukan kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 1,0 g zat uji dalam kloroform sampai batas volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dalam kloroform sampai batas volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g standar lindan dalam kloroform sampai batas volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (b) dalam kloroform sampai batas volume 10 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 10 mg  $\alpha$ -heksaklorosikloheksan dalam larutan uji (a) sampai batas volume 5 ml.

Totolkan secara terpisah 1  $\mu$ l dari setiap larutan dan kembangkan lempeng sampai 12 cm menggunakan campuran dari 10 volume kloroform dan 90 volume sikloheksan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Sinari dengan cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm selama 15 menit dan semprot dengan dikarboksidin hidroklorida 6 g/l dalam alkohol (90% v/v). Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), merupakan bagian dari bercak utama, tidak lebih kuat dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,0%). Uji tidak absah, jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) menunjukkan dua bercak terpisah.

**Klorida.** Pada 0,75 g, tambahkan 15 ml air. Didihkan selama 1 menit. Biarkan sampai dingin, kocok dan saring. Pada 10 ml hasil saringan, tambahkan 3 ml air dan 2 ml alkohol. Larutan memenuhi uji batas untuk klorida (100 ppm).

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%, gunakan 1,0 g.

**Penetapan kadar**

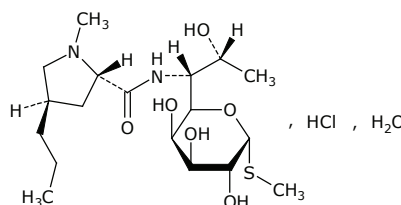
Pada 0,2 g tambahkan 10 ml alkohol, hangatkan di atas penangas air sampai larut dan dinginkan. Tambahkan 20 ml kalium hidroksida-alkohol 0,5 M, biarkan selama 10 menit, dan aduk. Tambahkan 50 ml air, 20 ml dari asam nitrat encer, 25,0 ml perak nitrat 0,1 M dan 5 ml amonium besi sulfat. Titrasi dengan amonium tiosianat 0,1 M sampai terbentuk warna kuning kemerahan. Lakukan titrasi blanko. Setiap ml perak nitrat 0,1 M setara dengan 9,694 mg  $C_6H_6Cl_6$ .

**Penyimpanan**

Dilindungi dari cahaya.

**Khasiat**

Antiparasit kulit.

**Linkomisin Hidroklorida***Lincomycin Hydrochloride* $C_{18}H_{34}N_2O_6S, HCl, H_2O$ 

BM: 461,0

[7179-49-9]

**Definisi**

Linkomisin hidroklorida mengandung terutama metil 6,8-dideoksi-6-[[[(2S,4R)-1-metil-4-propilpirrolidin-2-il]karbonil]amino]-1-tio-D-eritro- $\alpha$ -D-

galaktootopiranosid hidroklorida, yaitu suatu zat antimikroba yang diproduksi oleh *Streptomyces lincolnensis* var. *lincolnensis* atau cara lain.

Mengandung tidak kurang dari 89,5% dan tidak lebih dari 102,0% dari linkomisin hidroklorida ( $C_{18}H_{35}ClN_2O_6S$ ), yang dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air, sukar larut dalam etanol dan angat sukar larut dalam aseton.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, D.

Identifikasi kedua: B, C, D.

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar linkomisin hidroklorida.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silica gel G atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan 10 mg zat uji dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar linkomisin hidroklorida dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar linkomisin hidroklorida dan 10 mg standar klindamisin hidroklorida dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Fase gerak.** Campuran 20 volume 2-propanol, 40 volume amonium asetat (50 g/l, atur pH 9,6 dengan amoniak), 45 volume etil asetat.

Totolkan 5  $\mu$ l dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan diudara, semprot dengan kalium permanganat (1 g/l). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji adalah sama pada posisi, warna dan ukuran dengan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (a). Uji tidak absah kecuali bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) terpisah jelas.

C. Larutkan sekitar 10 mg dalam asam hidroklorida encer dan panaskan dalam penangas air selama 3 menit. Tambah 3 ml kalium karbonat dan 1 ml natrium nitroprusida (20 g/l). Terbentuk warna violet-merah

D. Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam air sampai volume 10 ml. Larutan memberikan reaksi klorida.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air bebas karbondioksida sampai volume 20 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibanding dengan larutan standar  $Y_6$ .

**pH.** Larutan S adalah 3,5—5,5.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam air sampai volume 25,0 ml. Rotasi jenis antara  $+135^\circ$  sampai  $+150^\circ$ , dihitung dengan standar anhidrat.

**Linkomisin B.** Periksa kromatogram yang diperoleh untuk penetapan potensi/kadar untuk larutan uji (a). Area puncak linkomisin B, yang terelusi sebelum linkomisin, tidak lebih dari 5% area puncak linkomisin.

**Logam berat.** Pada 2,0 g memenuhi uji batas logam berat. Gunakan 1,0 ml larutan standar timbal (10 ppm Pb).

**Air.** 3,1%—4,6%. Gunakan 0,5 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,5%. Gunakan 1 g.

**Endotoksin bakteri.** Kurang dari 0,50 IU/mg.

### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.
- Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan standar internal.** Larutkan dan encerkan 0,2 g dotriakontan dalam kloroform sampai volume 25,0 ml.

**Larutan (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam larutan imidazol (20 g/l) sampai volume 100 ml. Pindahkan 4,0 ml larutan ke dalam tabung sentrifus 15 ml, tambahkan 1 ml campuran 99 volume dari N,O-bis(trimetilsilil)asetamid dan 1 volume trimetilklorosilan, aduk. Kendurkan tutup tabung dan panaskan pada suhu  $65^\circ\text{C}$  selama 30 menit.

**Larutan (b).** Proses seperti larutan (a), tambah 10 ml standar internal.

**Larutan (c).** Standar linkomisin hidroklorida, lakukan seperti larutan (a) menggunakan 0,1 g standar linkomisin hidroklorida dan tambah 10,0 ml standar internal.

**Kolom.** Gelas OV-17, ukuran 1,5 m  $\times$  3 mm atau yang sesuai dengan suhu  $260^\circ\text{C}$ , suhu injektor dan detektor  $260^\circ\text{—}290^\circ\text{C}$ .

**Laju alir gas helium.** 45 ml per menit.

**Detektor.** Flame ionization detector (FID), dengan suhu  $260^\circ\text{—}290^\circ\text{C}$ .

**Injek.** 1  $\mu$ l dari setiap larutan.

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya dan suhu tidak melebihi  $30^\circ\text{C}$ .

### Khasiat

Antibiotik.

## Linkomisin Injeksi

### Definisi

Linkomisin injeksi adalah larutan steril dari linkomisin hidroklorida di dalam air untuk injeksi. Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung linkomisin,  $C_{18}H_{34}N_2O_6S$  tidak kurang dari 95% dan tidak lebih dari 105% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Karakteristik

**Pemerian.** Larutan jernih tidak berwarna.

### Identifikasi

A. Pada sediaan, setara dengan 0,2 g linkomisin hidroklorida, tambah aseton aduk sampai mulai terbentuk endapan dan tambah lagi 20 ml aseton. Saring endapan, bilas dua kali, masing-masing 10 ml aseton, larutkan residu dengan sedikit larutan campuran 4 volume kloroform dan 1 volume metanol, uapkan sampai kering pada suhu  $60^{\circ}C$  dan tekanan tidak melebihi 2 kPa selama 4 jam. Spektrum serapan inframerah dari residu sesuai dengan spektrum serapan standar linkomisin hidroklorida.

B. Pada penetapan potensi/kadar, kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) memperlihatkan puncak dengan waktu tambat yang sama turunan trimetilsilil linkomisin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1).

**Keasaman.** pH 3,0—5,5.

**Linkomisin B.** Periksa larutan (3) sebagaimana diuraikan pada penetapan potensi/kadar tetapi tingkatkan sensitivitas 8—10 kali. Linkomisin B akan segera terelusi sebelum linkomisin. Area puncak yang diperoleh linkomisin B, jika dikoreksi dengan faktor sensitivitas, tidak lebih dari 5% dari area puncak yang diperoleh dari linkomisin.

**Endotoksin bakteri.** Lakukan dengan metode untuk endotoksin bakteri. Encerkan sediaan hingga mengandung 10 mg linkomisin dengan air (larutan A). Batas endotoksin pada larutan A adalah 5,0 IU setiap ml.

### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan (1).** Tambahkan 10 ml larutan dotriakontan 0,8% b/w (standar internal) dalam kloroform pada 0,1 g standar linkomisin hidroklorida, encerkan sampai batas volume 100 ml dengan larutan imidazol 2% b/v dalam kloroform dan kocok. Pindahkan 4 ml larutan ke dalam tabung sentrifus -15 ml, tambahkan 1 ml campuran 99 volume dari N,O-bis(trimetilsilil)asetamid dan 1 volume trimetilklorosilan, aduk kendorkan tutup tabung dan panaskan pada suhu  $65^{\circ}C$  selama 30 menit.

**Larutan (2).** Sediaan linkomisin hidroklorida 0,9 g dalam 10 ml metanol, kemudian lakukan dengan cara yang sama dengan larutan (1) tetapi tanpa penambahan standar internal serta gunakan residu yang diperoleh dengan cara penguapan hingga 1 ml.

**Larutan (3).** Standar linkomisin hidroklorida 0,9 g dalam 10 ml metanol, kemudian lakukan dengan cara yang sama dengan larutan (1) tetapi tanpa penambahan standar internal serta gunakan residu yang diperoleh dengan cara penguapan hingga 1 ml.

**Kolom.** Gelas OV-17, ukuran 1,5 m  $\times$  3 mm atau yang sesuai dengan suhu  $260^{\circ}C$ , suhu injektor  $260^{\circ}$ — $290^{\circ}C$ .

**Laju alir gas helium.** 45 ml per menit.

**Detektor.** Flame ionization detector (FID) dengan suhu  $260^{\circ}$ — $290^{\circ}C$ .

**Injek.** 1  $\mu$ l dari setiap larutan.

### Penyimpanan

Linkomisin injeksi harus dilindungi dari cahaya dan suhu tidak melebihi  $30^{\circ}C$ .

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Linkomisin Serbuk Oral

### Definisi

Linkomisin serbuk oral mengandung linkomisin hidroklorida dalam pembawa yang sesuai.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut.

Mengandung linkomisin hidroklorida tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, D.

Identifikasi kedua: B, C, D.

- A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar linkomisin hidroklorida:
- B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silica gel G atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 10 mg zat uji dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 10 mg standar linkomisin hidroklorida dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar linkomisin hidroklorida dan 10 mg standar klindamisin hidroklorida dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Fase gerak.** Campur 20 volume 2-propanol, 40 volume amonium asetat (50 g/l, atur pH 9,6 dengan amoniak), 45 volume etil asetat.

Totolkan 5  $\mu$ l dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan diudara, semprot dengan kalium permanganat (1 g/l). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji adalah sama pada posisi, warna dan ukuran dengan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (a). Uji



tidak absah kecuali bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) terpisah jelas.

- C. Larutkan 10 mg dalam asam hidroklorida encer dan panaskan dalam penangas air selama 3 menit. Tambah 3 ml kalium karbonat dan natrium nitroprusida (20 g/l). Terbentuk warna violet-merah.
- D. Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam air sampai volume 10. Larutan memberikan reaksi klorida.

**Linkomisin B.** Periksa kromatogram yang diperoleh untuk penetapan potensi/kadar untuk larutan uji (a). Area puncak linkomisin B, yang terelusi sebelum linkomisin, tidak lebih dari 5% area puncak linkomisin.

**Logam berat.** Pada 2,0 g memenuhi uji batas logam berat. Gunakan 1,0 ml larutan standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** 3,1—4,6%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 0,5 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,5%, gunakan 1 g.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.
- Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan standar internal.** Larutkan dan encerkan 0,2 g dotriakontan dalam kloroform sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam larutan imidazol (20 g/l) sampai batas volume 100 ml. Pindahkan 4,0 ml larutan ke dalam tabung sentrifus -15 ml, tambah 1 ml campuran 99 volume dari N,O-bis(trimetilsilil)asetamid dan 1 volume trimetilklorosilan, aduk dan panaskan pada suhu 65°C selama 30 menit.

**Larutan (b).** Proses seperti larutan (a), tambah 10 ml standar internal.

**Larutan (c).** Standar linkomisin hidroklorida, lakukan seperti larutan (a) menggunakan 0,1 g standar linkomisin hidroklorida dan tambah 10,0 ml standar internal.

**Kolom.** Gelas OV-17, ukuran 15 cm × 3 mm atau yang sesuai dengan suhu 260°C, suhu injektor dan detektor 260—290°C.

**Laju alir gas helium.** 45 ml/menit.

**Detektor.** Flame ionization detector (FID) dengan suhu 260—290°C.

**Injek.** 1 µl dari setiap larutan.

#### Penyimpanan

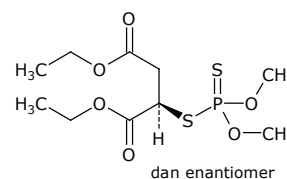
Dalam wadah tertutup, kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Malation

### Malathion



$C_{10}H_{19}O_6PS_2$

BM: 330,4

[121-75-5]

#### Definisi

Malation mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% dari dietil (2RS)-2-(dimetoksifosfinoditioil) butandioat, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Cairan jernih, tidak berwarna atau sedikit kekuningan.

**Kelarutan.** Sukar larut dalam air, bercampur dengan alkohol, aseton, sikloheksan dan minyak nabati.

**Suhu beku.** 3°C.

#### Identifikasi

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar malation.

**Kerapatan relatif.** 1,220—1,240.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 2,50 g dalam alkohol sampai batas volume 25,0 ml. Sudut rotasi jenis adalah -0,1° sampai +0,1°.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan cara kromatografi cair seperti yang tertera pada penetapan kadar, menggunakan:

**Injek.** 20 µl larutan uji (a) dan 20 µl dari larutan standar (d).

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a) area puncak ketidakmurnian A tidak lebih besar dari tiga kali area puncak yang diperoleh dengan larutan standar (d) (0,3%); area puncak ketidakmurnian B tidak lebih besar dari area puncak yang diperoleh dengan larutan standar (d) (0,1%); jumlah area semua puncak utama dan puncak ketidakmurnian A atau B tidak lebih besar dari dua kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1%). Abaikan puncak dengan area kurang dari 0,1 kali area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b).

**Air.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 2,0 g.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,10 g zat uji dalam campuran 1 volume air dan 3 volume asetonitril sampai volume 5,0 ml.

**Larutan uji (b).** Pada 1,0 ml larutan uji (a), encerkan dalam campuran dari 1 volume air dan 3 volume asetonitril sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g standar malation dalam campuran 1 volume air dan 3 volume asetonitril sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Pada 0,5 ml larutan uji (a), encerkan dalam campuran 1 volume air dan 3 volume asetonitril sampai volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 5,0 mg standar malation ketidakhurnian A dan 5,0 mg standar malation ketidakhurnian B dalam campuran 1 volume air dan 3 volume asetonitril sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (d).** Pada 2,0 ml larutan standar (c), encerkan dalam campuran 1 volume air dan 3 volume asetonitril sampai 10,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 10 µm, 15 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Fase gerak.** Campuran 45 volume asetonitril dan 55 volume air.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 210 nm, suhu 35°C.

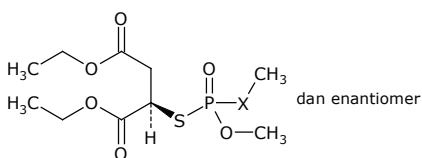
**Injek.** 20 µl larutan standar (b) dan (c).

**Waktu tambat.** Ketidakhurnian B sekitar 3,5 menit; ketidakhurnian A sekitar 5 menit dan malation sekitar 16 menit. Lakukan penyesuaian sensitivitas sistem sehingga tinggi puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) adalah 50% dari skala-penuh. Uji tidak absah, jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) resolusi antara puncak ketidakhurnian A dan B adalah 2,0. Injek larutan standar (a) enam kali. Uji tidak absah kecuali jika simpangan baku relatif area puncak untuk malation paling banyak 1,0%. Injek secara berurutan larutan uji (b) dan larutan standar (a).

### Penyimpanan

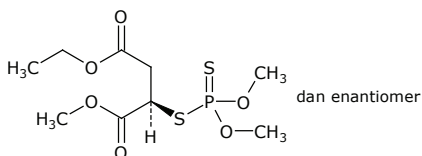
Kedap udara, dilindungi dari cahaya.

### Ketidakhurnian



A. X = S: Dietil (2RS)-2-[(metoksi)(metilsulfanil)-S-fosfinotioil]butanedioat (isomalation).

B. X = O: Dietil (2RS)-2-(dimetoksi-S-fosfinotioil)butanedioat (malokson).



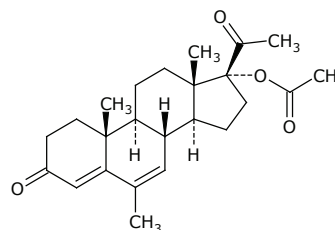
C. Etil dan metil (2RS)-2-(dimetoksifosfinoditioil)butanedioat (metil analog).

### Khasiat

Obat pembasmi serangga.

## Megestrol Asetat

*Megestrol Acetate*



$C_{24}H_{32}O_4$

BM: 384,5

[595-33-5]

### Definisi

Megestrol asetat adalah 6-metil-3,20-dioksopregna-4,6-dien-17-il asetat.

Mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0% dihitung dengan standar terhadap zat kering

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, larut dalam aseton, agak sukar larut dalam alkohol.

**Suhu lebur.** 217°C.

### Identifikasi

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar megestrol asetat.

**Rotasi jenis.** Antara +14,0° sampai +17,0° (zat kering). Larutkan dan encerkan 2,5 g dengan metilen klorida sampai volume 25,0 ml.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 25,0 mg zat uji dalam campuran 145 volume tetrahidrofuran dan 255 volume asetonitril sampai volume 20 ml dan encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 25,0 mg medoksi-progesteron dalam campuran 145 volume tetrahidrofuran dan 255 volume asetonitril sampai volume 20 ml dan encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan (a) dengan fase gerak sampai volume 200,0 ml.

**Larutan standar (c).** Pada 3 ml larutan uji, tambah 1 ml larutan standar (a) dan encerkan dengan fase gerak sampai volume 50 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5 µm 25 cm x 4,6 mm.

**Fase gerak.** Campuran tetrahidrofuran, asetonitril, air (145:255:600 v/v/v).

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek.** 20 µl. Sensitivitas larutan standar (b).

**Waktu uji.** 1,5 kali waktu tambat megestrol asetat.

**Kesesuaian sistem larutan standar (c).** Resolusi

minimum 4,0 antara puncak ketidakmurnian A dan megestrol asetat.

#### Batas

**Ketidakmurnian A.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

**Total ketidakmurnian.** Tidak lebih dari 2 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,0%).

**Abaikan batas.** 0,1 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

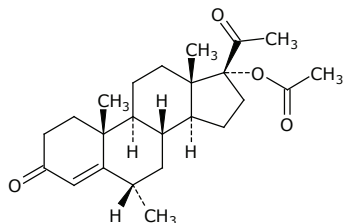
**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 15,0 mg zat uji dalam etanol sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 5,0 ml larutan dengan etanol sampai batas volume 100,0 ml.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 287 nm.

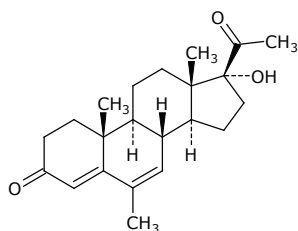
#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

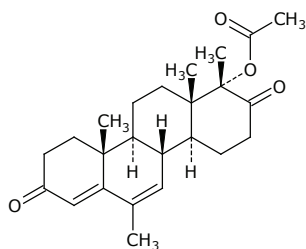
#### Ketidakmurnian



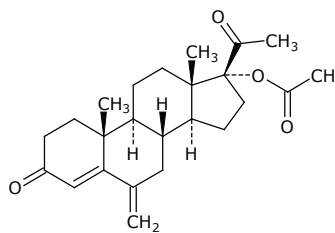
A. 6 $\alpha$ -metil-3,20-dioksopregna-4-en-17-il asetat (medroksi progesteron asetat).



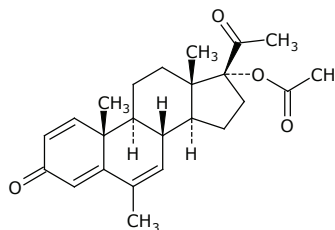
B. 6-metil-17-hidroksipregna-4,6-diena-3,20-dion (megestrol).



C. 6,17a-dimetil-3,17-diokso-D-homoandrosta-4,6-dien-17 $\alpha$ -il asetat (D-homo megestrol asetat).



D. 6-metilena-3,20-dioksopregna-4-en-17-il asetat (6-metilena hidroksiprogesteron asetat).



E. 6-metil-3,20-dioksopregna-1,4,6-trien-17-il asetat.

#### Khasiat

Progesterogen.

## Megestrol Tablet

#### Definisi

Megestrol tablet mengandung megestrol asetat dan dapat mengandung aroma yang sesuai.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam sediaan tablet dan persyaratan berikut.

Mengandung megestrol asetat tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

Pada sediaan setara 25 mg megestrol asetat, tambah 150 ml kloroform, aduk selama 30 menit, saring. Bilas hasil saringan dengan 20 ml air, evaporasi ekstrak kloroform sampai kering.

Panaskan pada suhu 60°C, dengan tekanan tidak lebih dari 0,7 kPa, residu memenuhi syarat berikut:

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar megestrol asetat.
- Memenuhi uji identifikasi steroid dengan fase gerak D dan pelarut II.

**Disintegrasi.** Tidak lebih dari 30 menit.

**Steroid asing sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel 60.

**Fase gerak.** Campuran 0,5 volume air, 8 volume metanol dan 92 volume 1,2-dikloroetan.

**Larutan (1).** Pada sediaan setara 0,1 g megestrol asetat, tambah 10 ml campuran 1 volume metanol dan 9 volume kloroform, aduk selama 10 menit. Sentrifus dan gunakan supernatan.

**Larutan (2).** Standar megestrol 0,005% b/v dalam campuran 1 volume metanol dan 9 volume kloroform.

Totolkan secara terpisah 5 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng, keringkan diudara dan semprot dengan asam sulfat-etanol (20%), panaskan pada suhu 110°C selama 10 menit. Periksa dengan sinar ultraviolet (365 nm) Bercak kedua pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat intensitasnya dibanding dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (0,5%)

### Penetapan kadar

Lakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan standar internal.** Propil-4-hidroksibenzoat 0,016% b/v dalam asetonitril (Larutan A).

**Larutan (1).** Campur 4 ml standar megestrol asetat 0,02% b/v dalam asetonitril dengan 10 ml larutan A dan encerkan dengan asetonitril 40% v/v sampai batas volume 50 ml.

**Larutan (2).** Sediaan setara 0,08 g megestrol asetat, tambah 10 ml air, aduk selama 10 menit. Tambah 75 ml asetonitril, aduk selama 30 menit, encerkan dengan asetonitril sampai batas volume 100 ml dan sentrifus. Pada 10 ml larutan, encerkan dengan asetonitril 40% v/v sampai batas volume 50 ml. Pada 5 ml larutan, tambah 10 ml asetonitril dan encerkan dengan asetonitril 40% v/v sampai volume 50 ml

**Larutan (3).** Lakukan seperti larutan (2), tambah 10 ml larutan A sebagai pengganti 10 ml asetonitril.

**Kolom.** Spherisorb ODS 1, 25 cm x 4,6 mm.

**Fase gerak.** Campuran 32 volume air dan 68 volume asetonitril.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

Uji tidak absah, kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1), mempunyai faktor resolusi antara puncak propil 4-hidroksibenzoat dengan megestrol asetat adalah 8.

- Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Sediaan setara dengan 5 mg megestrol asetat, tambah 100 ml kloroform, aduk selama 30 menit dan saring. Uapkan 5 ml hasil saringan sampai kering dan larutkan residu dalam 25 ml metanol. Pada 10 ml, tambah 10 mg natrium tetrahidroborat, aduk sampai larut, biarkan gas ter-evolusi.

**Larutan blanko.** Campuran 10 ml metanol dan 10 mg natrium tetrahidroborat.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 287 nm.

### Penyimpanan

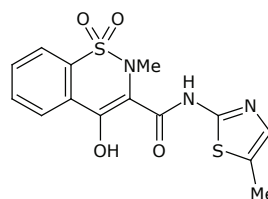
Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Meloksikam

*Meloxicam*



$C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$

BM: 351,4

[71125-38-7]

### Definisi

Meloksikam adalah 4-hidroksi-2-metil-N-(5-metil-1,3-tiazol-2-il)-2 H-1,2-benzotiazin-3-karboksamid, 1,1-dioksida.

Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5% dari  $C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kuning.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, sukar larut dalam aseton, larut dalam dimetilformamid, sangat sukar larut dalam etanol (96%) dan metanol.

### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar meloksikam.
- Serapan cahaya, pada panjang gelombang 240 nm—450 nm dari larutan 0,0015% b/v dalam metanol, serapan maksimum pada panjang gelombang 354 nm, sekitar 0,8.

**Kejernihan larutan.** Larutan 5,0% b/v dalam dimetilformamid adalah jernih.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Zat uji 0,4% b/v dalam campuran 50 volume metanol (40%) dan 3 volume natrium hidroksida 0,4M dan encerkan dalam metanol (40%) sampai volume sama.

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan (1) sampai 100,0 volume dengan metanol (40%) dan encerkan 1 volume sampai 10 volume dengan metanol (40%).

**Larutan (3).** Lakukan seperti yang tertera dalam larutan (1) menggunakan standar ketidakhurnian meloksikam. Larutan (1) lakukan proses kromatografi selama 20 menit atau sampai ketidakhurnian C terelusi.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil (Inertsil ODS-2) 5 µm, ukuran 15 cm x 4,6 mm atau yang sesuai dan lakukan linier gradien pada suhu 45°C.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Fase gerak A.** Kalium dihidrogen ortofosfat 0,1% b/v dan atur pH 6,0 dengan natrium hidroksida encer.

**Fase gerak B.** Metanol.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0	60	40
2,5	60	40
12	30	70

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 260 nm dan 350 nm.

**Injek.** 10 µl dari setiap larutan.

Uji tidak absah, jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) sesuai dengan standar ketidakh murnian meloksikam. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) pada panjang gelombang 350 nm, area puncak sesuai dengan ketidakh murnian A dan C, tidak lebih besar dari setengah area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) pada panjang gelombang 350 nm (0,1% dari ketidakh murnian A sebagai faktor-koreksi 2,0, dan 0,05% untuk ketidakh murnian C). Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) pada panjang gelombang 260 nm, area puncak sesuai dengan ketidakh murnian B, tidak lebih besar dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) pada panjang gelombang 350 nm (0,1%). Dalam kedua kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) pada panjang gelombang 350 nm dan 260 nm, area puncak kedua yang lain tidak lebih besar dari area puncak di kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) pada panjang gelombang 350 nm (0,1%). Hitung % isi ketidakh murnian A dan C pada panjang gelombang 350 nm, ketidakh murnian B pada panjang gelombang 260 nm dan yang lain pada respon yang lebih tinggi. Nominal total isi ketidakh murnian tidak lebih besar dari 0,3%.

**Logam berat.** Pada 2,0 g memenuhi uji batas C untuk logam berat. Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

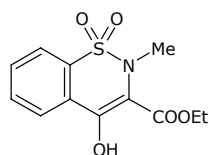
**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 3 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1 g.

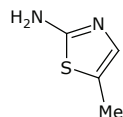
#### Penetapan kadar

Larutkan 0,25 g dalam campuran 50 ml asam asetat glasial dan 5 ml asam format anhidrat. Lakukan titrasi bebas air, tentukan titik-akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 35,14 mg C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>.

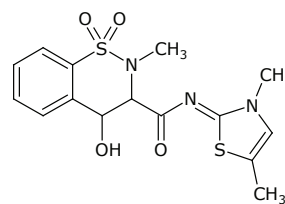
#### Ketidakh murnian



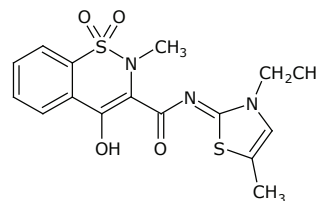
A. Etil 4-hidroksi-2-metil-2H-1,2-benzotiazina-3-karboksilat 1,1-dioksida.



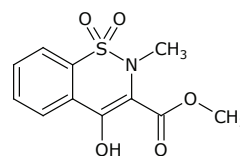
B. 5-metil 1,3-tiazol-2-amina.



C. N-[(2Z)-3,5-dimetil-1,3-tiazol-2(3H)-ilidena]-4-hidroksi-2-metil-2H-1,2-benzotiazina-3-karboksamida-1,1-dioksida.



D. N-[(2Z)-3,etil-5-metil-1,3-tiazol-2(3H)-ilidena]-4-hidroksi-2-metil-2H-1,2-benzotiazina-3-karboksamida 1,1-dioksida.



E. Metil 4-hidroksi-2-metil-2H-1,2-benzotiazina-3-karboksilat 1,1-dioksida.

#### Khasiat

Obat penghilang sakit; anti-radang.

### Meloksikam Suspensi Oral

#### Definisi

Meloksikam suspensi oral adalah suspensi meloksikam dalam pembawa yang sesuai.

Suspensi oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk suspensi oral dan persyaratan berikut.

Mengandung meloksikam, C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel 60 F<sub>254</sub> (KTKLT) atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 1 volume amonia 13,5 M, 20 volume metanol dan 80 volume diklorometan.

**Larutan (1).** Encerkan sediaan setara 3 mg meloksikam sampai volume 10 ml dengan aseton, aduk selama 10 menit, saring dan gunakan hasil saringan.

**Larutan (2).** Larutkan 3 mg standar meloksikam dalam 5 ml aseton, tambah 0,5 ml air dan encerkan dengan aseton sampai volume 10 ml.

Totolkan 5 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa di bawah cahaya

ultraviolet (254 dan 365 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh larutan (2).

- B. Dispersikan sediaan setara 1,5 mg meloksikam dalam 5 ml natrium hidroksida 0,1 M, encerkan dengan metanol sampai batas volume 100 ml dan saring. Serapan cahaya pada panjang gelombang 340—450 nm menunjukkan serapan maksimum pada 362 nm.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Larutkan sediaan setara dengan 15 mg meloksikam dengan 50 ml fase gerak, aduk selama 30 menit dan saring.

**Larutan (2).** Standar meloksikam 0,03% b/v dalam fase gerak.

**Kolom.** Nucleosil C18 10  $\mu\text{m}$ , ukuran 10 cm  $\times$  4 mm atau yang sesuai dan pra-kolom ukuran 1 cm dengan material yang sama, suhu 40°C.

**Fase gerak.** Campuran 35 volume (campuran yang mengandung 10 volume propan-2-ol, 65 volume metanol) dan 65 volume diamonium hidrogen ortofosfat 0,2% b/v, atur pH 7,0 dengan asam ortofosfat.

**Laju alir.** 0,8 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek.** 10  $\mu\text{l}$  dari setiap larutan.

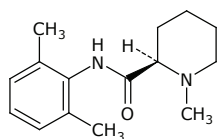
**Waktu uji.** Dua kali lebih waktu tambat puncak utama.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Mepivakain Hidroklorida

*Mepivacaine Hydrochloride*



dan enantiomer, HCl

$\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{ClN}_2\text{O}$

BM: 282,8

[1722-62-9]

#### Definisi

Mepivakain hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% dari (RS)-N-(2,6-dimetilfenil)-1-metilpiperidin-2-karboksamida hidroklorida, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air dan alkohol, sangat sukar larut dalam metilen klorida.

**Suhu lebur.** 260°C dan terdekomposisi.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B, D.

Identifikasi kedua: B, C, D.

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar mepivakain hidroklorida.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel yang sesuai dengan indikator berfluoresensi pada panjang gelombang 254 nm.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 20 mg zat uji dalam alkohol sampai volume 5 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar mepivakain hidroklorida dalam alkohol sampai 5 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar mepivakain hidroklorida dan standar lidokain hidroklorida dalam alkohol sampai volume 5 ml.

**Fase gerak.** Campuran 1 volume amoniak pekat, 5 volume metanol dan 100 volume eter.

Totolkan 10  $\mu\text{l}$  dari setiap larutan. Angkat lempeng, keringkan di udara dan periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a). Uji tidak absah kecuali jika, kromatogram diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan dua bercak utama yang terpisah.

C. Pada 5 ml larutan S, tambah 1 ml natrium hidroksida encer dan kocok dua kali, masing-masing dengan 10 ml eter. Keringkan lapisan atas dengan natrium sulfat anhidrat, saring dan uapkan eter di atas penangas air. Keringkan residu pada suhu 105°C selama 2 jam. Suhu lebur adalah 151°—155°C.

D. Memberikan reaksi klorida.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 1,5 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 30 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar B<sub>7</sub>.

**pH.** 4,0—5,0. Encerkan 2 ml larutan S dengan air bebas karbon dioksida sampai 5 ml.

**Rotasi optis.** -0,10° sampai +0,10°. Gunakan larutan S.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 20,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20,0 mg zat uji dan 30,0 mg standar mepivakain ketidakmurnian B dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji

dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil (tidak aktif) 5 µm, ukuran 12,5 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 35 volume asetonitril dan 65 volume asam fosfat (2,25 g/l, atur pH 7,6 dengan natrium hidroksida pekat).

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 220 nm.

**Injek.** 20 µl larutan standar (a).

Lakukan penyesuaian sensitivitas sistem sehingga tinggi kedua puncak pada kromatogram yang diperoleh adalah 20% dari skala-penuh. Uji tidak absah kecuali jika, resolusi antara puncak mepivakain ketidakhurnian B dan mepivakain adalah 2,5.

**Injek.** 20 µl larutan uji dan larutan standar (b).

Lanjutkan kromatografi selama tiga kali waktu tambat mepivakain. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, area puncak yang merupakan puncak utama, tidak lebih besar 2 kali area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,2%) dan area tidak lebih dari puncak ini tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,1%); jumlah area dari semua puncak utama, tidak lebih besar dari 5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%). Abaikan puncak dengan area kurang dari 0,2 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b).

**2,6-Dimetilanilin.** Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam metanol sampai volume 10 ml. Pada 2 ml larutan, tambah 1 ml dimetilaminobenzaldehid (10 g/l dalam metanol), 2 ml asam asetat glasial serta dan biarkan selama 10 menit. Warna kuning larutan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan standar yang disiapkan pada saat bersamaan dengan cara sama menggunakan 2 ml larutan 2,6-dimetilanilin 5 mg/l dalam metanol (100 ppm).

**Logam berat.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam air sampai batas volume 25 ml dan saring. Pada 10 ml hasil saringan memenuhi uji batas logam berat (5 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (1 ppm Pb).

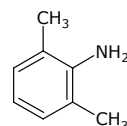
**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0% pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%, Gunakan 1,0 g.

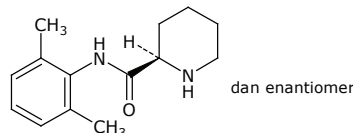
#### Penetapan kadar

Larutkan 0,25 g dalam campuran 5,0 ml asam hidroklorida 0,01 M dan 50 ml alkohol. Lakukan titrasi potensiometri menggunakan natrium hidroksida 0,1 M. Baca volume yang ditambahkan antara kedua titik infleksi. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 28,28 mg C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>ClN<sub>2</sub>O.

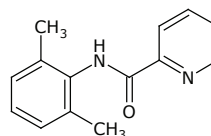
#### Ketidakhurnian



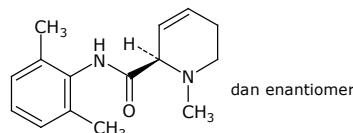
A. 2,6-dimetilanilina.



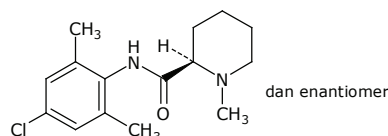
B. (RS)-N-(2,6-dimetilfenil)piperidina-2-karboksamida.



C. N-(2,6-dimetilfenil)piridina-2-karboksamida.



D. (RS)-N-(2,6-dimetilfenil)-1-metil-1,2,5,6-tetrahidropiridina-2-karboksamida.



E. (RS)-N-(4-kloro-2,6-dimetilfenil)-1-metilpiperidina-2-karboksamida.

#### Khasiat

Obat bius lokal.

### Mepivakain Injeksi

#### Definisi

Mepivakain injeksi adalah larutan steril dari mepivakain hidroklorida dalam air untuk injeksi. Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung mepivakain hidroklorida, C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HCl tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika F<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 1 volume amoniak 13,5 M, 5 volume metanol dan 100 volume eter.

**Larutan (1).** Sediaan mepivakain hidroklorida 0,4% b/v dalam etanol (96%).

**Larutan (2).** Standar mepivakain hidroklorida 0,4% b/v dalam etanol (96%).

**Larutan (3).** Standar mepivakain hidroklorida

0,4% b/v dan lidokain hidroklorida 0,4% b/v dalam etanol (96%).

Totolkan 10 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng, keringkan di udara dan periksa di bawah cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan (2).

Uji tidak absah kecuali jika kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan dua bercak utama terpisah.

- B. Periksa kromatogram dalam penetapan kadar, kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) menunjukkan puncak dengan waktu tambat yang sama terhadap puncak utama yang diperoleh dengan larutan (2).

**Keasaman.** pH 4,5—6,0.

**2,6-Dimetilanilin.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Sediaan setara 0,1 g mepivakain hidroklorida dalam 100 ml fase gerak.

**Larutan (2).** 2,6-dimetilanilin 0,0002% b/v dalam fase gerak.

Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar. Area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) adalah 2,6-dimetilanilin, tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (0,2% mepivakain hidroklorida).

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Sediaan setara 0,1 g dari mepivakain hidroklorida dalam 100 ml fase gerak. Encerkan 1 volume dengan fase gerak sampai 20 volume.

**Larutan (2).** Standar mepivakain hidroklorida 0,005% b/v dalam fase gerak.

**Kolom.** Spherisorb ODS 1, 5 µm, ukuran 25 cm × 3,2 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 1 volume trietilamin, 400 volume asetonitril dan 600 volume larutan kalium dihidrogen ortofosfat 0,2% b/v, atur pH 4,0 dengan asam ortofosfat.

**Laju alir.** 0,5 ml/menit.

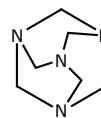
**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 212 nm.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Metenamin

### Methenamine



C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>

BM: 140,2

[100-97-0]

#### Definisi

Metenamin mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5% dari 1,3,5,7-tetra-azotriksiklo[3.3.1.1.3,7]dekan, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, larut dalam alkohol dan metilen klorida.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A.

Identifikasi kedua: B, C, D.

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar metenamin.
- Pada 1 ml larutan S, tambah 1 ml asam sulfat dan segera panaskan sampai mendidih. Dinginkan. Pada 1 ml larutan, tambah 4 ml air dan 5 ml asetilaseton. Panaskan di atas penangas air selama 5 menit. Terbentuk warna kuning kuat.
- Pada 1 ml larutan S, tambah 1 ml asam sulfat encer dan segera panaskan sampai mendidih. Larutan memberikan reaksi garam amonium basa yang mudah menguap.
- Larutkan 10 mg dalam 5 ml air dan asamkan dengan asam hidroklorida encer. Tambah 1 ml kalium iodobismut. Terbentuk endapan orange.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 10,0 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 100 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak berwarna.

**Keasaman-kebasaan.** Pada 5 ml larutan S, tambah 0,1 ml larutan fenolftalein. Tidak lebih dari 0,2 ml asam hidroklorida 0,1 M atau natrium hidroksida 0,1 M diperlukan untuk mengubah warna indikator.

**Formaldehid bebas.** Larutkan 0,8 g dalam air sampai volume 8 ml. Tambah 2 ml amoniak perak nitrat (Larutkan 2,5 g perak nitrat dalam 80 ml air dan teteskan amoniak 6 M sampai endapan larut, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml. Larutan harus segar). Setelah 5 menit, terbentuk warna abu-abu dalam larutan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar formaldehid (5 ppm) dan 2 ml amoniak perak nitrat (50 ppm).

**Klorida.** Encerkan 5 ml larutan S dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas klorida (100 ppm).



**Sulfat.** Pada 15 ml larutan S, memenuhi uji batas sulfat (100 ppm).

**Amonium.** Encerkan 2 ml larutan S dengan air sampai volume 13 ml. Tambah 2 ml natrium hidroksida encer. Larutan memenuhi uji amonium (50 ppm).

**Logam berat.** Pada 12 ml larutan S, Memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan standar timbal (2 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 2,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,1 g dalam 30 ml metanol. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M, tentukan titik-akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 14,02 mg  $C_6H_{12}N_4$ .

#### Penyimpanan

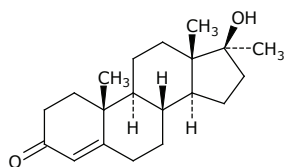
Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Anti-infeksi.

### Metiltestosteron

*Methyltestosterone*



$C_{20}H_{30}O_2$

BM: 302,5

[58-18-4]

#### Definisi

Metiltestosteron mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0% dari 17 $\beta$ -hidroksi-17 $\alpha$ -metilandro-4-en-3-on, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kekuningan.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam alkohol.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: B.

Identifikasi kedua: A, C.

A. Suhu lebur 162°—168°C.

B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar metiltestosteron.

C. Pada kromatogram yang diperoleh pada uji senyawa sejenis, semprot lempeng dengan larutan jenuh kalium dikromat (campuran 30 volume air dan 70 volume asam sulfat). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap

bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam alkohol sampai volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah +79° sampai +85°, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel yang mengandung indikator fluoresen pada 254 nm.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,2 g zat uji dalam campuran 1 volume metanol dan 9 volume kloroform sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 20 ml standar metiltestosteron dalam 1 ml campuran 1 volume metanol dan 9 volume kloroform.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1 ml larutan uji dengan campuran 1 volume metanol dan 9 volume kloroform sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 5 ml larutan standar (b) dengan campuran 1 volume metanol dan 9 volume kloroform sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan 10 mg standar testosteron dalam 0,5 ml larutan standar (a) dan encerkan dengan campuran 1 volume metanol dan 9 volume kloroform sampai volume 10 ml.

**Fase gerak.** Campuran 1 volume asam asetat anhidrat, 30 volume petroleum benzin dan 70 volume butil asetat.

Totolkan 5  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,0%) dan lebih pada 1 bercak lebih kuat intensitasnya dari pada bercak yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,5%). Uji tidak absah, kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (d) menunjukkan bercak yang terpisah.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 2,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 0,5 g.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50,0 mg dalam alkohol sampai volume 50,0 ml. Encerkan 10,0 ml larutan dengan alkohol sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 10,0 ml larutan dengan alkohol sampai 100,0 ml.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 241 nm.

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Androgen; anabolik steroid.

## Metiltestosteron Tablet

### Definisi

Metiltestosteron tablet mengandung metiltestosteron dalam pembawa yang sesuai.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut:

Mengandung metiltestosteron tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Sediaan setara 25 mg metiltestosteron, tambah 50 ml kloroform, aduk selama 20 menit, saring dan uapkan hasil saringan sampai kering. Residu memenuhi syarat berikut:

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar metiltestosteron.
- Memenuhi uji identifikasi steroid dengan pelarut II dan fase gerak D.

**Disintegrasi.** Tidak lebih dari 1 jam.

### Penetapan kadar

Lakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Sediaan setara dengan 5 mg metiltestosteron, tambah 50 ml kloroform, aduk selama 20 menit, biarkan dan sentrifus. Uapkan 5 ml supernatan sampai kering. Larutkan residu dalam 10 ml larutan panas 2,4-dinitrofenilhidrazin 0,25% dalam asam hidroklorida 2 M. Aduk dan panaskan diatas penangas air selama 30 menit, hindarkan kehilangan volume karena penguapan, dinginkan semalam, saring dengan gelas saring No. 4. Bilas endapan dengan 50 ml asam hidroklorida 2 M dan 50 ml air, keringkan pada suhu 105°C selama 30 menit. Larutkan dan encerkan dalam kloroform sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan blanko.** Lakukan seperti dalam larutan uji, menggunakan 2 ml etanol (96%) bebas aldehid.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 390 nm.

- Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan setara 50,0 mg metiltestosteron dengan alkohol sampai volume 50,0 ml. Pada 10 ml larutan, encerkan dengan alkohol sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 10 ml larutan dengan alkohol sampai batas volume 100,0 ml.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 241 nm.

### Penyimpanan

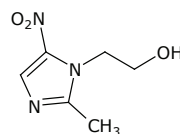
Dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Metronidazol

*Metronidazole*



$C_6H_9N_3O_3$

BM: 171,2

[443-48-1]

### Definisi

Metronidazol adalah 2-(2-Metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)etanol.

Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kekuningan.

**Kelarutan.** Sukar larut dalam air, aseton, alkohol dan metilen klorida.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: C.

Identifikasi kedua: A, B, D.

A. Suhu lebur 159°—163°C.

B. Larutkan dan encerkan 40,0 mg dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 5,0 ml larutan dengan asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 100,0 ml. Periksa pada panjang gelombang antara 230 nm dan 350 nm, Larutan menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 277 nm dan minimum pada panjang gelombang 240 nm. Serapan spesifik pada panjang gelombang maksimum adalah 365—395.

C. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar metronidazol.

D. Pada 10 mg, tambah 10 mg serbuk seng, 1 ml air dan 0,25 ml asam hidroklorida encer. Panaskan diatas penangas air selama 5 menit dan dinginkan. Larutan memberikan reaksi aromatik amina primer.

**Kejernihan larutan.** Larutan tidak lebih opalesen dibandingkan larutan standar dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan dengan larutan standar GY<sub>6</sub>. Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam asam hidroklorida 1 M sampai volume 20 ml.

### Senyawa sejenis

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,05 g zat uji dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 1,0 ml dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml dengan fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan 5,0 mg standar metronidazol ketidakhurnian A dalam fase gerak, tambah 10,0 ml larutan uji dan encerkan dengan fase

gerak sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 30 volume metanol dan 70 volume kalium dihidrogen fosfat (1,36 g/l).

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 315 nm.

**Injek.** 10  $\mu\text{l}$ .

**Waktu uji.** 3 kali waktu tambat metronidazol.

**Waktu tambat relatif.** Standar metronidazol sekitar 7 menit dan ketidakhurnian A sekitar 0,7.

**Kesesuaian sistem larutan standar (b).** Resolusi minimum 2,0 antara puncak metronidazol dan ketidakhurnian A.

### Batas

**Ketidakhurnian lain.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,1%).

**Total.** Tidak lebih dari 2 kali area puncak utama pada kromatogram, yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,2%).

**Abaikan batas.** 0,1 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,01%).

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Pada 1,0 g memenuhi uji batas. Gunakan larutan standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

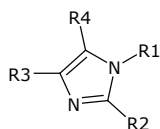
### Penetapan kadar

Larutkan 0,150 g dalam 50 ml asam asetat glasial. Tirasi dengan asam perklorat 0,1 M. Tentukan titik akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara 17,12 mg  $\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_3$ .

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Ketidakhurnian



- A.  $\text{R}_1 = \text{R}_4 = \text{H}$ ,  $\text{R}_2 = \text{CH}_3$ ,  $\text{R}_3 = \text{NO}_2$ : 2-metil-4-nitroimidazol.
- B.  $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{R}_4 = \text{H}$ ,  $\text{R}_3 = \text{NO}_2$ : 4-nitroimidazol.
- C.  $\text{R}_1 = \text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$ ,  $\text{R}_2 = \text{R}_4 = \text{H}$ ,  $\text{R}_3 = \text{NO}_2$ : 2-(4-nitro-1H-imidazol-1-il)etanol.
- D.  $\text{R}_1 = \text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$ ,  $\text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{H}$ ,  $\text{R}_4 = \text{NO}_2$ : 2-(5-nitro-1H-imidazol-1-il)etanol.

E.  $\text{R}_1 = \text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$ ,  $\text{R}_2 = \text{CH}_3$ ,  $\text{R}_3 = \text{NO}_2$ ,  $\text{R}_4 = \text{H}$ : 2-(2-metil-4-nitro-1H-imidazol-1-il)etanol.

F.  $\text{R}_1 = \text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$ ,  $\text{R}_2 = \text{CH}_3$ ,  $\text{R}_3 = \text{H}$ ,  $\text{R}_4 = \text{NO}_2$ : 2-[2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)etoksi]etanol.

G.  $\text{R}_1 = \text{CH}_2\text{-CO}_2\text{H}$ ,  $\text{R}_2 = \text{CH}_3$ ,  $\text{R}_3 = \text{H}$ ,  $\text{R}_4 = \text{NO}_2$ : Asam 2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)asetik.

### Khasiat

Anti-bakteri.

## Metronidazol Injeksi

### Definisi

Metronidazol injeksi adalah larutan steril metronidazol dalam air untuk injeksi.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung metronidazol,  $\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_3$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Karakteristik

**Pemerian.** Larutan tidak berwarna atau kuning pucat.

### Identifikasi

Larutkan sediaan setara dengan 0,1 g metronidazol dengan 9 g natrium klorida, aduk selama 5 menit, tambah 20 ml aseton dan biarkan terpisah. Uapkan lapisan atas sampai kering. Spektrum serapan inframerah dari residu sesuai dengan spektrum serapan standar metronidazol.

**Keasaman.** pH 4,5—6,0.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Standar 2-metil-5-nitroimidazol 0,00050% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (2).** Sediaan metronidazol 0,1% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (3).** Standar 2-metil-5-nitroimidazol 0,00050% b/v dalam larutan (2).

**Kolom.** Spherisorb ODS 1, 10  $\mu\text{m}$ , ukuran 20 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 30 volume metanol dan 70 volume kalium dihidrogen ortofosfat 0,01 M.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 315 nm.

**Waktu uji.** 3 kali waktu tambat puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2). Lakukan penyesuaian sensitivitas sehingga tinggi puncak 2-metil-5-nitroimidazol pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) adalah 50% dari skala-penuh. Ukur tinggi puncak 2-metil-5-nitroimidazol dan tinggi (b) yang merupakan bagian dari kurva paling rendah dari pemisahan puncak utama. Uji tidak absah kecuali jika (a) lebih besar dari 10 (b).

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2), area puncak kedua tidak lebih besar dari area puncak 2-metil-5-nitroimidazol pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) (0,5%).

**Nitrit.** Pada sediaan setara dengan 2,5 mg metronidazol, tambah 40 ml air, 2 ml asam sulfanilat, 2 ml asam aminonaftalen sulfonat dan encerkan dengan air sampai batas volume 50 ml. Biarkan pada suhu kamar selama 1 jam. Ukur serapan pada maksimum 524 nm, menggunakan pembanding larutan standar yang disiapkan dengan cara yang sama, mulai kata "tambah 40 ml air.....". Serapan tidak lebih besar dari yang diperoleh dengan standar (20 ppm).

#### Penetapan kadar

Encerkan sediaan setara 50 mg metronidazol sampai batas volume 100 ml dengan asam hidroklorida 0,1 M. Encerkan 10 ml dengan pelarut yang sama sampai batas volume 250 ml. Ukur serapan pada panjang gelombang 277 nm.

#### Penyimpanan

Metronidazol injeksi harus dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Dimetridazol Serbuk Oral

#### Definisi

Dimetridazol serbuk oral mengandung dimetridazol dalam pembawa sesuai.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk serbuk oral dan persyaratan berikut.

Mengandung dimetridazol,  $C_5H_7N_3O_2$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

Campur sediaan setara 0,1 g dimetridazol dengan 20 ml eter, kocok dan saring. Pada hasil saringan, tambah 10 ml asam pikrat (1% b/v dalam eter), aduk dan diamkan. Bilas sedimen dengan eter dan keringkan pada suhu 105°C. Suhu lebur sedimen 160°C.

#### Penetapan kadar

Pada sediaan setara 0,45 g dimetridazol, tambah 10 ml kloroform dan aduk selama 1 menit. Ulangi proses ekstraksi empat kali, masing-masing dengan 10 ml kloroform. Pada fase kloroform, tambah 50 ml asam asetat glasial (yang sebelumnya dinetralkan dengan asam perklorat 0,1 M). Lakukan titrasi bebas air, menggunakan kristal violet sebagai indikator. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 14,11 mg  $C_5H_7N_3O_2$ .

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Metronidazol Suspensi Injeksi

#### Definisi

Metronidazol suspensi 5 010(ad)-4(ak3(o)2(umk6(5 010(aa-5(l)-3(a)9(m

dengan air dan panaskan pada suhu 105°C. Suhu lebur 150°C.

- C. Panaskan sediaan setara dengan 10 mg metronidazol diatas penangas air selama 5 menit dengan serbuk seng, 1 ml air dan 0,25 ml asam hidroklorida, dinginkan dalam es, tambah 0,5 ml natrium nitrit. Hilangkan kelebihan natrium nitrit dengan asam sulfamat, tambah 0,5 ml larutan 2-naftol dan 2 ml natrium hidroksida 5M, terbentuk warna merah jingga.

**Senyawa sejenis.** Lakukan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Standar 2-metil-5-nitroimidazol 0,0005% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (2).** Sediaan setara dengan 0,2 g metronidazol, tambah 100 ml fase gerak, aduk selama 5 menit dan encerkan dengan fase gerak sampai batas volume 200 ml.

**Larutan (3).** Standar 2-metil-5-nitroimidazol 0,0005% b/v dalam larutan (2).

**Kolom.** Spherisorb ODS-1 10 µm, ukuran 20 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 30 volume metanol dan 70 volume kalium dihidrogen ortofosfat 0,01 M.

**Laju alir: 1 ml/menit.**

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 315 nm.

**Waktu uji.** 3 kali waktu tambat puncak utama yang diperoleh pada kromatogram dengan larutan (2). Lakukan penyesuaian sensitivitas sistem sehingga tinggi puncak 2-metil-5-nitroimidazol pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) adalah 50% dari skala penuh. Ukur tinggi (a) dari 2-metil-5-nitroimidazol dan tinggi dasar (b). Uji tidak absah, kecuali jika (a) lebih besar dari 10 (b).

Area puncak kedua pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) tidak lebih besar dari area puncak 2-metil-5-nitroimidazol yang diperoleh dengan larutan (1).

### Penetapan kadar

Ekstrak 6 kali sediaan setara dengan 0,2 g metronidazol, masing-masing dengan 10 ml aseton panas, dinginkan. Campur ekstrak, tambah 50 ml asam asetat glasial dan 0,1 ml hijau brilian 1% b/v dalam asam asetat glasial. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M sampai terbentuk warna hijau kekuningan. Lakukan titrasi blanko. Selisih titran antara blanko dan sediaan merupakan jumlah titran yang dipergunakan. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 17,12 mg C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>.

### Penyimpanan

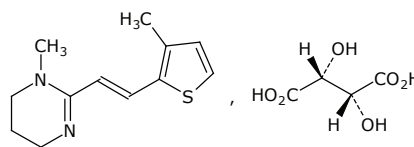
Dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Morantel Hidrogen Tartrat

*Morantel Hydrogen Tartate*



C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S

BM: 370,4

[26155-31-7]

### Definisi

Morantel tartrat adalah 1-metil-2-[(E)-2-(3-metilthiopen-2-il)etenil]-hidrogen 1,4,5,6-tetrahidro pirimidin tartrat.

Mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,5%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kekuningan.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air dan alkohol, praktis tidak larut dalam etil asetat.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: B.

Identifikasi kedua: A, C, D.

A. Suhu lebur 167°—172°C.

B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar morantel hidrogen tartrat.

C. Larutkan 10 mg dalam 1 ml larutan amonium vanadat (5 g/l). Uapkan sampai mendekati kering. Tambah 0,1 ml asam sulfat. Terbentuk warna ungu.

D. Larutkan 10 mg dalam 1 ml natrium hidroksida 0,1 M. Pindahkan ke dalam labu pisah dan kocok dengan 5 ml metilen klorida. Buang lapisan organik. Netralkan fase air dengan beberapa tetes asam hidroklorida encer. Larutan memberikan reaksi tartrat.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 25,0 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar GY<sub>6</sub> atau Y<sub>6</sub>.

**pH.** 2,8—3,2 untuk larutan S.

**Senyawa sejenis.** Lakukan prosedur kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 2,0 ml larutan standar (a) dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Paparkan 10 ml larutan standar (a) terhadap cahaya selama 15 menit sebelum injeksi.

**Larutan standar (d).** Larutkan dan encerkan 15,0 mg asam tartrat dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** End-capped oktadesilsilil (tidak aktif) 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 0,35 volume trietilamin, 85 volume air (atur pH 2,5 dengan asam fosfat), 5 volume tetrahidrofuran dan 10 volume metanol.

**Laju alir.** 0,75 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 226 nm.

**Injek.** 20 µl.

**Waktu uji.** Dua kali lebih waktu tambat morantel.

**Kesesuaian sistem larutan standar (c).** Resolusi minimum 2 antara puncak utama dan puncak [(Z)-isomer].

#### Batas

**Ketidakhurnian asam tartrat.** Tidak lebih dari 0,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,5%).

**Total.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (1%).

**Abaikan batas.** Area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,02%).

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Pada 1,0 g memenuhi uji batas untuk logam berat. Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

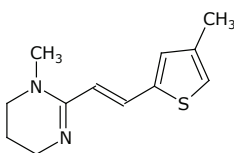
#### Penetapan kadar

Larutkan 0,28 g dalam 40 ml asam asetat glasial. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M. Tentukan titik-akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 37,04 mg C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S.

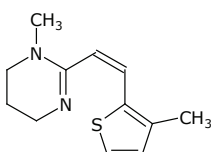
#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

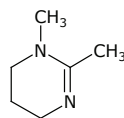
#### Ketidakhurnian



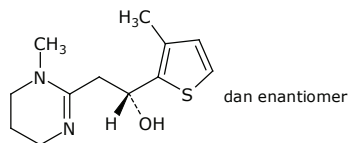
A. 1-metil-2-[(E)-2-(4-metiltiofena-2-il)etenil]-1,4,5,6-tetrahidropirimidina.



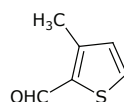
B. 1-metil-2-[(Z)-2-(3-metiltiofena-2-il)etenil]-1,4,5,6-tetrahidropirimidina.



C. 1,2-dimetil-1,4,5,6-tetrahidropirimidina.



D. (1R)-2-(1-metil-1,4,5,6-tetrahidropirimidina-2-il)-1-(3-metiltiofena-2-il)etanol.



E. 3-metiltiofena-2-karbalhida.

#### Khasiat

Obat cacing.

### Morantel Serbuk Oral

#### Definisi

Morantel serbuk oral mengandung morantel hidrogen tartrat dalam pembawa yang sesuai.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

- Larutkan 10 mg dalam 1 ml larutan amonium vanadat (5 g/l). Uapkan sampai mendekati kering. Tambah 0,1 ml asam sulfat. Terbentuk warna ungu.
- Larutkan 10 mg dalam 1 ml natrium hidroksida 0,1 M. Pindahkan ke dalam labu-pisah dan kocok dengan 5 ml metilen klorida. Buang lapisan organik. Netralkan fase air dengan beberapa tetes asam hidroklorida encer. Larutan memberikan reaksi tartrat.
- Periksa kromatogram yang diperoleh pada penetapan kadar, waktu tambat larutan uji sama dengan standar morantel.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** End-capped oktadesilsilil (tidak aktif) 5 µm, ukuran 0,25 m x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 0,35 volume trietilamin, 85 volume air (atur pH 2,5 dengan asam fosfat), 5 volume tetrahidrofuran dan 10 volume metanol.

**Laju alir.** 0,75 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 226 nm.

**Injek.** 20  $\mu$ l.

2. Lakukan dengan metode titrasi, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 0,28 g dalam 40 ml asam asetat glasial.

Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M, tentukan titik-akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 37,04 mg  $C_{16}H_{22}N_2O_6S$ .

### Penyimpanan

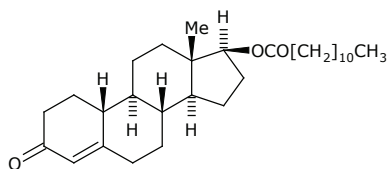
Dalam wadah tertutup kedap dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Nandrolon Laurat

*Nandrolone Laurate*



$C_{30}H_{48}O_3$

BM: 456,7

[26490-31-3]

### Definisi

Nandrolon laurat adalah 3-okso-estr-4-en-17 $\beta$ -il laurat.

Mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0% dari  $C_{30}H_{48}O_3$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam kloroform, etanol (96%), eter, minyak dan ester asam lemak.

### Identifikasi

- A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar nandrolon laurat.  
B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel F<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Campur 20 volume air, 40 volume asetonitril dan 60 volume propan-2-ol.

**Larutan (1).** Zat uji 0,5% b/v dalam kloroform.

**Larutan (2).** Standar nandrolon laurat 0,5% b/v dalam kloroform.

**Larutan (3).** Campuran larutan (1) dan (2) dengan volume yang sama.

Totolkan secara terpisah 5  $\mu$ l dari larutan berikut. Keringkan di udara sampai bau pelarut hilang dan panaskan pada suhu 100°C selama 10 menit.

Dinginkan, periksa di bawah cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan (2). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan bercak tunggal yang kompak.

C. Suhu lebur 47°C.

**Rotasi jenis.** Larutan 2% b/v dalam 1,4-dioksan, adalah +31° sampai +35°, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Nandrolon.** Lakukan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G.

**Fase gerak.** Campuran 3 volume aseton dan 7 volume heptan.

**Larutan (1).** Zat uji 1,5% b/v dalam kloroform.

**Larutan (2).** Standar nandrolon laurat 0,03% b/v dalam kloroform.

Totolkan 1  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Keringkan di udara sampai bau pelarut hilang, semprot dengan larutan asam sulfat 10% v/v dalam etanol (96%), panaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan periksa di bawah cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan nandrolon dan tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (2%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan diatas fosfor pentoksida dengan tekanan tidak melebihi 0,7 kPa selama 24 jam sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.

### Penetapan kadar

Larutkan dan encerkan 10 mg dalam etanol absolut sampai batas volume 100 ml, encerkan 5 ml dengan etanol sampai 50 ml absolut dan ukur serapan larutan maksimum pada panjang gelombang 240 nm. Hitung isi dari  $C_{30}H_{48}O_3$ , 380 sebagai nilai A (1%, 1 cm) pada panjang gelombang 240 nm.

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya pada suhu 2°C sampai 8°C.

### Khasiat

Steroid anabolik; androgen.

## Nandrolon Laurat Injeksi

### Definisi

Nandrolon laurat injeksi adalah larutan steril dari nandrolon laurat dalam etil oleat, atau ester lain yang sesuai dan minyak yang sesuai atau campurannya. Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung nandrolon laurat,  $C_{30}H_{48}O_3$  tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika F<sub>254</sub> (Whatman KC 18F) atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 20 volume air, 40 volume asetonitril dan 60 volume propan-2-ol.

**Larutan (1).** Sediaan nandrolon laurat 0,5% b/v dalam kloroform.

**Larutan (2).** Standar nandrolon laurat 0,5% b/v dalam kloroform.

**Larutan (3).** Campuran dengan volume yang sama dari larutan (1) dan (2).

Totolkan secara terpisah 5 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng, keringkan di udara dan panaskan pada suhu 100°C selama 10 menit. Dinginkan dan periksa di bawah cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai terhadap bercak yang diperoleh dengan larutan (2). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan bercak tunggal dan kompak.

**Penetapan kadar**

Pada sediaan setara dengan 0,1 g nandrolon laurat, tambah kloroform sampai batas volume 100 ml. Encerkan 3 ml larutan dengan kloroform sampai batas volume 50 ml. Pada 5 ml, tambah 10 ml larutan isoniazid dan metanol sampai batas volume 20 ml. Biarkan selama 45 menit. Ukur serapan pada panjang gelombang 380 nm. Hitung kadar C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub> dari serapan yang diperoleh dengan standar nandrolon C<sub>18</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub>. Setiap mg C<sub>18</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub> setara dengan 1,664 mg C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub>.

**Penyimpanan**

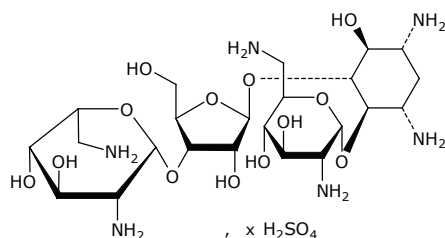
Nandrolon laurat injeksi harus dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. (3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Neomisin Sulfat

*Neomycin Sulphate*



C<sub>23</sub>H<sub>46</sub>N<sub>6</sub>O<sub>13</sub>, xH<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>      BM: 615      [1405-10-3]

**Definisi**

Campuran sulfat dari zat yang diproduksi oleh pertumbuhan *Streptomyces fradiae* tertentu, komponen utama adalah sulfat [dari] 2-deoksi-4-O-(2,6-diaminonitro-2,6-dideoxy-a-D-glukopiranosil)-5-O-[3-O-(2,6-diaminonitro-2,6-dideoxy-b-L-idopiranosil)-b-D-

ribofuranosil]-d-streptaminitol (neomisin B).

Mengandung minimum 680 IU/mg (zat kering).

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk putih atau putih kekuningan, higroskopik.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air, sangat sukar larut dalam alkohol, praktis tidak larut dalam aseton.

**Identifikasi**

A. Pada kromatogram yang diperoleh dari uji senyawa sejenis.

**Hasil.** Waktu tambat puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai terhadap puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (e), memenuhi uji batas ketidakh murnian C.

B. Memberikan reaksi sulfat.

**pH.** 5,0—7,5. Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 10 ml.

**Rotasi jenis.** +53,5° sampai +59,0° (zat kering). Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam air sampai volume 10 ml.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 25,0 mg standar framisetin sulfat dalam fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5,0 ml larutan standar (a) dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan isi vial standar neamin (0,5 mg) dalam fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (e).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar neomisin sulfat dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil (basa tidak aktif) 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 25°C.

**Fase gerak.** Campurkan 20,0 ml asam trifluoroasetat, 6,0 ml larutan natrium hidroksida bebas karbonat dan 500 ml air, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Laju alir.** 0,7 ml/menit.

**Larutan pos kolom.** Larutan natrium hidroksida bebas karbonat, encerkan 1 dari 25 (sebelumnya hilangkan gas menggunakan 375 µl).

**Laju alir pos kolom.** 0,5 ml/menit.

**Detektor.** Amperometrik elektroda indikator emas, elektroda standar perak atau perak klorida dan elektroda bantu baja tahan-karat adalah badan sel, berturut-turut 0,00 V pendeteksian, +0,80 V oksidasi dan -0,60 V pengurangan potensial dengan jangka waktu sesuai terhadap instrumen yang digunakan.

**Injek.** 10 µl larutan uji dan larutan standar (b), (c), (d) dan (e).



**Waktu uji.** 1,5 kali waktu tambat neomisin B.

**Waktu tambat relatif.** Standar neomisin B sekitar 10 menit, ketidakh murnian A sekitar 0,65, ketidakh murnian C sekitar 0,9, ketidakh murnian G sekitar 1,1.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi minimum 2,0 antara puncak ketidakh murnian C dan neomisin B pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e). Jika diperlukan, atur volume larutan natrium hidroksida bebas karbonat dalam fase gerak.

**Perbandingan puncak gangguan.** Minimum 10 untuk puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c).

#### Batas

**Ketidakh murnian A.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (d) (2,0%).

**Ketidakh murnian C.** Tidak lebih dari 3 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (15,0%) dan tidak kurang dari 0,6 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (3,0%).

**Ketidakh murnian lain.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (5,0%).

**Total ketidakh murnian lain.** Tidak lebih dari 3 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (15,0%).

**Abaikan batas.** Area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (1,0%).

**Sulfat.** 27,0—31,0% (zat kering). Larutkan 0,25 g dalam 100 ml air dan atur pH 11 dengan amoniak pekat. Tambah 10,0 ml barium klorida 0,1 M dan 0,5 mg ungu ftalein. Titrasi dengan natrium edetat 0,1 M, tambah 50 ml alkohol ketika warna larutan mulai berubah, lanjutkan titrasi sampai warna biru-violet hilang. Setiap ml barium klorida 0,1 M setara dengan 9,606 mg SO<sub>4</sub>.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 8,0%. Pada pengeringan dengan suhu 60°C di atas fosfor pentoksida dan tekanan tidak lebih 0,7 kPa sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 1,0%. Gunakan 1,0 g.

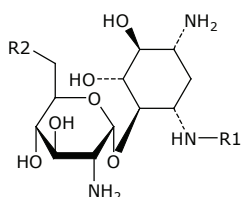
#### Penetapan potensi

Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

#### Penyimpanan

Kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakh murnian

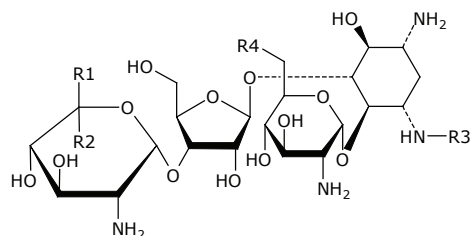


A. R1 = H, R2 = NH<sub>2</sub>; 2-deoksi-4-O-(2,6-diamino-2,6-

dideoksi-α-D-glukopiranosil)-D-streptamina (neamina atau neomisin A-LP).

B. R1 = CO-CH<sub>3</sub>, R2 = NH<sub>2</sub>; 3-N-asetil-2-deoksi-4-O-(2,6-diamino-2,6-dideoksi-α-D-glukopiranosil)-D-streptamina (3-asetilneamin).

D. R1 = H, R2 = OH; 4-O-(2-amino-2-deoksi-α-D-glukopiranosil)-2-deoksi-D-streptamin (paromamin atau neomisin D).



C. R1 = CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, R2 = R3 = H, R4 = NH<sub>2</sub>; 2-deoksi-4-O-(2,6-diamino-2,6-dideoxy-α-D-glukopiranosil)-5-O-[3-O-(2,6-diamino-2,6-dideoxy-α-D-glukopiranosil)-β-D-ribofuranosil]-D-streptamin (neomisin C).

E. R1 = R3 = H, R2 = CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, R4 = OH; 4-O-(2-amino-2-deoksi-α-D-glukopiranosil)-2-deoksi-5-O-[3-O-(2,6-diamino-2,6-dideoxy-β-L-idopiranosil)-β-D-ribofuranosil]-D-streptamin (paromomisin I atau neomisin E).

F. R1 = CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, R2 = R3 = H, R4 = OH; 4-O-(2-amino-2-deoksi-α-D-glukopiranosil)-2-deoksi-5-O-[3-O-(2,6-diamino-2,6-dideoxy-α-D-glukopiranosil)-β-D-ribofuranosil]-D-streptamin (paromomisin II atau neomisin F).

G. R1 = H, R2 = CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, R3 = CO-CH<sub>3</sub>, R4 = NH<sub>2</sub>; 3-N-asetil-2-deoksi-4-O-(2,6-diamino-2,6-dideoxy-α-D-glukopiranosil)-5-O-[3-O-(2,6-diamino-2,6-dideoxy-β-L-idopiranosil)-β-D-ribofuranosil]-D-streptamin (neomisin B-LP).

#### Khasiat

Antibiotik.

### Neomisin Sulfat Serbuk Oral

#### Definisi

Neomisin sulfat serbuk oral mengandung neomisin dalam pembawa yang sesuai.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam serbuk oral dan persyaratan berikut.

Mengandung neomisin sulfat tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

A. Periksa kromatogram yang tertera pada uji senyawa sejenis.

B. Waktu tambat puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan uji sesuai terhadap puncak utama yang diperoleh larutan standar.

C. Memenuhi uji batas ketidakh murnian C.

D. Memberikan reaksi sulfat.

**pH.** 5,0—7,5. Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam air bebas karbondioksida sampai volume 10 ml.

**Rotasi jenis.** +53,5° sampai +59,0° (zat kering). Larutkan dan encerkan 1 g dengan air bebas karbondioksida sampai volume 10 ml.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25,0 mg zat uji dengan fase gerak sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 25,0 mg standar dengan fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan 5,0 ml larutan standar (a) dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan 1,0 ml larutan standar (a) dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan dan encerkan sediaan setara 0,5 ml larutan standar neamin dengan fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (e).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar neomisin sulfat dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai. Suhu 25°C.

**Fase gerak.** Campuran 20,0 ml asam trifluoroasetat, 6,0 ml natrium hidroksida bebas karbonat dan 500 ml air, ekuilibrasikan, dan encerkan dengan air sampai volume 1000 ml.

**Laju alir.** 0,7 ml/menit.

**Larutan pos kolom.** Larutkan natrium hidroksida bebas karbonat 1 dalam 25, gunakan kolom 375 µm.

**Laju alir.** 0,5 ml/menit.

**Detektor.** Amperometrik dengan elektroda emas, standar perak klorida dan elektroda baja.

**Injek.** 10 µl larutan uji dan larutan standar (b),(c),(d) dan (e).

**Laju alir.** 1,5 kali waktu tambat neomisin B.

**Waktu tambat relatif.** Standar neomisin B sekitar 10 menit, ketidakhurnian A sekitar 0,65, ketidakhurnian C sekitar 0,9, ketidakhurnian G sekitar 1,1.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi minimum 2,0 antara ketidakhurnian C dan neomisin B pada kromatogram yang diperoleh larutan standar (e). Jika perlu, tambah volume natrium hidroksida bebas karbonat dengan fase gerak.

**Puncak gangguan.** Minimum 10 untuk puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan standar.

#### Batas

**Ketidakhurnian A.** Tidak lebih dari puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan uji (d) (2,0%).

**Ketidakhurnian C.** Tidak lebih dari tiga kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan uji (b) (15,0%) dan tidak kurang dari 0,6 kali

area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan uji (b) (3,0%).

**Ketidakhurnian lain.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan uji (b) (5,0%).

**Total ketidakhurnian.** Tidak lebih dari tiga kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan uji (b) (15,0%).

**Abaikan batas.** Area dari puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan standar (c) (1,0%).

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan menurut cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.

#### Penyimpanan

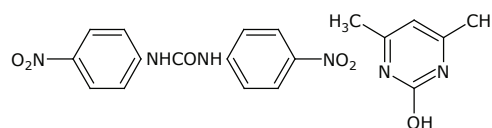
Dalam wadah, tertutup kedap dan terlindung dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Nikarbazin

*Nicarbazin*



C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>

BM: 426,4

[330-95-0]

#### Definisi

Mengandung nikarbazin tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kuning pucat.

**Kelarutan.** Sukar larut dalam air, alkohol, kloroform dan eter, larut dalam 700 bagian dimetilformamid.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar nikarbazin.

B. Periksa kromatogram yang diperoleh pada penetapan kadar. Waktu tambat larutan uji sama dengan waktu tambat larutan standar.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 3,0%. Pada pengeringan dengan suhu 100°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g

#### Penetapan kadar

Lakukan penetapan kadar dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50,0 mg nikarbazin dengan dimetilformamid sampai batas volume 200 ml dan saring. Jika diperlukan, encerkan

dengan fase gerak.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 50,0 mg standar nikarbazin dengan dimetilformamid sampai batas volume 200 ml dan saring. Jika diperlukan, encerkan dengan fase gerak.

**Kolom.** C-18 atau C-8 10  $\mu\text{m}$ , ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 7 volume metanol dan 3 volume air atau metanol dalam 10% dalam asam asetat glasial 0,01%.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 347 nm.

**Injek.** 20  $\mu\text{l}$  dari setiap larutan

### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup rapat.

### Khasiat

Koksidiostat.

## Nikarbazin Serbuk Oral

### Definisi

Nikarbazin serbuk oral mengandung nikarbazin dalam pembawa yang sesuai.

Serbuk oral memenuhi persyaratan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut.

Mengandung nikarbazin tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Periksa kromatogram yang diperoleh pada penetapan kadar. Waktu tambat larutan uji sama dengan waktu tambat larutan standar nikarbazin.

### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Sediaan setara 50 mg nikarbazin, tambah dimetilformamid, hangatkan sambil diaduk, dinginkan. Encerkan dengan dimetilformamid sampai batas volume 200,0 ml, sentrifus dan saring. Gunakan hasil saringan untuk penetapan kadar, atau ekstraksi sediaan, setara 50 mg nikarbazin dengan 100 ml dimetilformamid, hangatkan sambil diaduk dan didihkan. Dinginkan pada suhu ruang dan saring.

**Larutan standar.** Larutkan 50 mg standar nikarbazin, tambah dimetilformamid, hangatkan sambil diaduk, dinginkan. Encerkan dengan dimetilformamid sampai batas volume 200,0 ml, sentrifus dan saring. Gunakan hasil saringan.

**Kolom.** C-18, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 7 bagian volume metanol dan 3 bagian volume air atau 10% metanol dalam 0,01% asam asetat.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 347 nm.

### Penyimpanan

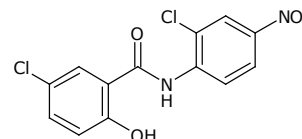
Dalam wadah, tertutup kedap dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Niklosamid Anhidrat

*Niclosamide Anhydrous*



$\text{C}_{13}\text{H}_8\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_4$

BM: 327,1

[50-65-7]

### Definisi

Niklosamid anhidrat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari 5-kloro-N-(2-kloro-4-nitrofenil)-2-hidroksibenzamid, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Kristal putih kekuningan atau kekuningan.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, agak sukar larut dalam aseton, sukar larut dalam etanol.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: B, E.

Identifikasi kedua: A, C, D, E.

A. Suhu lebur 227°—232°C.

B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar niklosamid anhidrat.

C. Pada 50 mg, tambah 5 ml asam hidroklorida 1 M dan 0,1 g serbuk seng, panaskan dalam penangas air selama 10 menit, dinginkan dan saring. Pada hasil saringan, tambah 1 ml natrium nitrit (5 g/l) dan diamkan selama 3 menit. Tambah 2 ml amonium sulfamat (20 g/l), kocok, diamkan selama 3 menit dan 2 ml naftiletildiamin dihidroklorida (5 g/l). Terbentuk warna violet.

D. Panaskan zat di atas kawat tembaga dalam nyala api. Terbentuk nyala api hijau.

E. Memenuhi uji susut pengeringan.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 50 mg zat uji dalam metanol, panaskan perlahan-lahan, dinginkan dan encerkan dengan metanol sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar.** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan asetonitril sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan asetonitril sampai volume 20,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 12,5 cm x 4 mm.

**Laju alir** 1,0 ml/menit.

**Fase gerak.** Campuran asetonitril dan larutan (mengandung dari kalium dihidrogen fosfat 2 g/l, dinatrium hidrogen fosfat 1 g/l dan tetrabutylamonium hidrogen sulfat 2 g/l) dengan volume yang sama.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 230 nm.

**Injek.** 20 µl dari setiap larutan.

**Waktu uji.** 2 kali lebih waktu tambat niklosamid.

Lakukan penyesuaian sensitivitas sampai tinggi puncak niklosamid pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar tidak kurang dari 20% dari skala-penuh. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, jumlah area puncak ikutan dari puncak niklosamid dan puncak bahan pelarut, tidak lebih besar dari 4 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (0,2%). Abaikan puncak lain dengan area kurang dari 10% dari area puncak niklosamid pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar.

#### Asam 5-Klorosalisilat

**Larutan uji.** Pada 1,0 g zat uji, tambah 15 ml air, dididihkan selama 2 menit, dinginkan, saring melalui saringan membran (ukuran pori-pori 0,45 µm). Bilas saringan, encerkan hasil saringan dan bilas dengan air sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar.** Larutkan 30 mg asam 5-klorosalisilat dalam 20 ml metanol dan encerkan dengan air sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

Pada 10,0 ml larutan uji dan 10,0 ml larutan standar, tambah secara terpisah 0,1 ml larutan besi (III) klorida. Warna violet dalam larutan uji tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar (60 ppm).

#### 2-Kloro-4-nitroanilin

**Larutan uji.** Pada 0,25 g zat uji, tambah 5 ml metanol, dididihkan, dinginkan, tambah 45 ml asam hidroklorida 1 M, dididihkan kembali, dinginkan, saring dan encerkan hasil saringan dengan asam hidroklorida 1 M sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 50 mg 2-kloro-4-nitroanilin dalam metanol sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan metanol sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 2,0 ml larutan dengan asam hidroklorida 1 M sampai volume 20,0 ml.

Pada 10,0 ml larutan uji dan 10,0 ml larutan standar, tambah secara terpisah 0,5 ml natrium nitrit (5 g/l) dan diamkan selama 3 menit. Tambah 1 ml amonium sulfamat (20 g/l), kocok, diamkan selama 3 menit dan tambahkan 1 ml naftiletilediamenit dihidroklorida (5 g/l). Warna violet kemerahan dalam larutan uji tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar (100 ppm).

**Klorida.** Pada 2 g, tambah campuran 1,2 ml asam asetat dan 40 ml air, dididihkan selama 2 menit, dinginkan dan saring. Pada 2 ml hasil saringan encerkan dengan air

sampai volume 15 ml. Memenuhi uji batas klorida (500 ppm).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,3 g dalam 80 ml campuran aseton dan metanol dengan volume yang sama. Titrasi dengan tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M, tentukan titik akhir secara potensiometrik.

Setiap ml tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M setara dengan 32,71 mg  $C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$ .

#### Penyimpanan

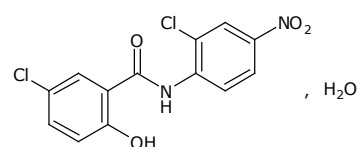
Kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Obat cacing.

## Niklosamid Monohidrat

*Niclosamide Monohydrate*



$C_{13}H_8Cl_2N_2O_4 \cdot H_2O$

BM: 345,1

[50-65-7]

#### Definisi

Niklosamid monohidrat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari 5-kloro-N-(2-kloro-4-nitrofenil)-2-hidroksi-benzamid, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Kristal kekuningan.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, agak sukar larut dalam aseton, sukar larut dalam etanol.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: B, E.

Identifikasi kedua: A, C, D, E.

A. Suhu lebur 227°—232°C.

B. Keringkan zat uji pada suhu 105°C selama 4 jam. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar niklosamid monohidrat.

C. Pada 50 mg, tambah 5 ml asam hidroklorida 1 M dan 0,1 g serbuk seng, panaskan dalam penangas air selama 10 menit, dinginkan dan saring. Pada hasil saringan, tambah 1 ml natrium nitrit (5 g/l) dan diamkan selama 3 menit. Tambah 2 ml amonium sulfamat (20 g/l), kocok, diamkan selama 3 menit dan 2 ml naftiletilediamenit dihidroklorida (5 g/l). Terbentuk warna violet.

D. Panaskan zat dengan kawat tembaga dalam nyala api. Terbentuk nyala api hijau.

E. Memenuhi uji susut pengeringan.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 50 mg zat uji dalam metanol, panaskan perlahan-lahan, dinginkan dan encerkan dengan metanol sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar.** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan asetonitril sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan asetonitril sampai volume 20,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 12,5 cm x 4 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Fase gerak.** Campuran asetonitril dan larutan (mengandung dari kalium dihidrogen fosfat 2 g/l, dinatrium hidrogen fosfat 1 g/l dan tetrabutylamonium hidrogen sulfat 2 g/l) dengan volume yang sama.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 230 nm.

**Injek.** 20  $\mu\text{l}$  dari setiap larutan.

**Waktu uji.** 2 kali lebih waktu tambat niklosamid.

Lakukan penyesuaian sensitivitas sehingga tinggi puncak niklosamid pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar tidak kurang dari 20% dari skala-penuh. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, jumlah area puncak ikutan dari puncak niklosamid dan puncak bahan pelarut, tidak lebih besar dari 4 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (0,2%). Abaikan puncak lain dengan area kurang dari 10% dari area puncak niklosamid pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar.

#### Asam 5-klorosalisilat

**Larutan uji.** Pada 1,0 g zat uji, tambah 15 ml air, dididihkan selama 2 menit, dinginkan, saring melalui saringan membran (ukuran pori-pori 0,45  $\mu\text{m}$ ). Bilas saringan, encerkan hasil saringan dan bilas dengan air sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar.** Larutkan 30 mg asam 5-klorosalisilat dalam 20 ml metanol dan encerkan dengan air sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

Pada 10,0 ml larutan uji dan 10,0 ml larutan standar, tambah secara terpisah masing-masing dengan 0,1 ml larutan besi (III) klorida. Warna violet dalam larutan uji tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar (60 ppm).

#### 2-Kloro-4-nitroanilin

**Larutan uji.** Pada 0,25 g zat uji, tambah 5 ml metanol, dididihkan, dinginkan dan tambah 45 ml asam hidroklorida 1 M. Dididihkan kembali, dinginkan, saring dan encerkan hasil saringan dengan asam hidroklorida 1 M sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 50 mg

2-kloro-4-nitroanilin dalam metanol sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan metanol sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 2,0 ml larutan dengan asam hidroklorida 1 M sampai volume 20,0 ml.

Pada 10,0 ml larutan uji dan 10,0 ml larutan standar, tambah secara terpisah masing-masing dengan 0,5 ml natrium nitrit (5 g/l) dan diamkan selama 3 menit. Tambah 1 ml amonium sulfamat (20 g/l), kocok, diamkan selama 3 menit dan tambah 1 ml naftiletilediamin dihidroklorida (5 g/l). Warna violet kemerahan dalam larutan uji tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar (100 ppm).

**Klorida.** Pada 2 g, tambah campuran 1,2 ml asam asetat dan 40 ml air, dididihkan selama 2 menit, dinginkan dan saring. Pada 2 ml hasil saringan, encerkan dengan air sampai volume 15 ml. Memenuhi uji batas klorida (500 ppm).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 4,5—6,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,3 g dalam 80 ml campuran aseton dan metanol dengan volume yang sama. Titrasi dengan tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M, tentukan titik akhir secara potensiometrik.

Setiap ml tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M setara dengan 32,71 mg  $\text{C}_{13}\text{H}_8\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_4$ .

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Obat cacang.

## Niklosamid Serbuk Oral

#### Definisi

Niklosamid serbuk oral mengandung niklosamid dalam pembawa yang sesuai.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam serbuk oral dan persyaratan berikut:

Mengandung niklosamid tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

Panaskan sediaan setara dengan 50 mg niklosamid dengan 5 ml asam klorida 1 M dan 0,5 g seng diatas penangas air selama 10 menit, dinginkan dan saring. Pada hasil saringan, tambah 0,5 ml larutan natrium nitrit 1% v/v, biarkan selama 10 menit. Tambah 2 ml larutan amonium sulfamat 2% v/v, kocok, biarkan selama 10 menit. Tambah 2 ml larutan N-(1-naftil) etana diamonium diklorida 0,5%. Terbentuk warna merah yang kuat.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1%.

**Penetapan kadar**

Larutkan sediaan setara dengan 300 mg niklosamid dalam 60 ml dimetilformamid dengan pemanasan. Lakukan titrasi bebas air menggunakan tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M. Setiap ml tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M setara dengan 32,71 mg niklosamid.

**Penyimpanan**

Dalam wadah, tertutup kedap dan terlindung dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Niklosamid Tablet

**Definisi**

Niklosamid tablet mengandung niklosamid anhidrat atau niklosamid monohidrat dalam pembawa yang sesuai.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut.

Mengandung niklosamid anhidrat,  $C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

Panaskan sediaan setara dengan 0,5 g niklosamid anhidrat dengan 25 ml etanol panas (96%), saring dan uapkan hasil saringan sampai kering di atas tangas air. Residu memenuhi uji berikut.

- A. Spektrum serapan inframerah dari residu sesuai dengan spektrum serapan standar niklosamid. Jika spektrum tidak sesuai, panaskan sejumlah residu pada suhu 120°C selama 1 jam dan periksa kembali spektrum serapannya.
- B. Pijarkan 20 mg sediaan dengan metode pembakaran labu oksigen, menggunakan 5 ml natrium hidroksida 2 M sebagai cairan penjerap. Pada cairan, tambah larutan perak nitrat. Terbentuk endapan putih yang tidak larut dalam asam nitrat 2 M tetapi larut dalam amonia 5 M.
- C. Panaskan 50 mg dengan 5 ml asam hidroklorida 1 M dan 0,1 g serbuk seng dalam penangas air selama 10 menit, dinginkan dan saring. Pada hasil saringan, tambah 0,5 ml natrium nitrit 1% b/v dan biarkan selama 10 menit. Tambah 2 ml larutan amonium sulfamat 2% b/v, aduk, biarkan selama 10 menit dan tambah 2 ml larutan larutan N-(1-naftil) etilenediamin dihidroklorida 0,5% b/v. Terbentuk warna merah.

**Disintegrasi.** Persyaratan disintegrasi tidak berlaku untuk niklosamid tablet.

**2-Kloro-4-nitroanilin.** Didihkan sediaan setara dengan 0,10 g niklosamid anhidrat dengan 20 ml metanol selama 2 menit, dinginkan, tambah asam hidroklorida 1 M sampai batas volume 50 ml dan saring. Pada

10 ml hasil saringan, tambah 0,5 ml natrium nitrit 0,5% b/v dan biarkan selama 10 menit. Tambah 1 ml larutan amonium sulfamat 2% b/v, aduk, biarkan selama 10 menit dan tambah 1 ml larutan N-(1-naftil) etilenediamin dihidroklorida 0,5% b/v. Warna yang terbentuk tidak lebih kuat dibandingkan warna yang diperoleh dengan cara sama dari 20 ml larutan berisi 10 µg 2-kloro-4-nitroanilin dalam metanol.

**Asam 5-Klorosalisilat.** Didihkan sediaan setara dengan 0,50 g niklosamid anhidrat dengan 10 ml air selama 2 menit, dinginkan, saring. Pada hasil saringan, tambah 0,2 ml besi (III) klorid. Tidak terbentuk warna merah atau violet.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode untuk kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Encerkan 1 volume larutan (2) sampai 100 volume dengan asetonitril dan encerkan kembali 1 volume larutan sampai 20 volume dengan asetonitril.

**Larutan (2).** Kocok sediaan setara dengan 0,1 g niklosamid anhidrat dengan 80 ml metanol selama 15 menit, tambah metanol sampai batas volume 100 ml dan saring.

**Kolom.** Nukleosil C18, 5 µm, ukuran 10 cm × 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 50 volume asetonitril dan 50 volume larutan (berisi kalium dihidrogen ortofosfat 0,2% b/v, tetrabutylamonium hidrogen sulfat 0,2% b/v dan dinatrium hidrogen ortofosfat 0,1% b/v).

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 230 nm.

**Waktu uji.** Dua kali lebih waktu tambat niklosamid.

Lakukan penyesuaian sensitivitas sistem sehingga tinggi puncak niklosamid pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak kurang dari 20% skala-penuh. Jumlah area puncak kedua pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) tidak lebih kuat dari 4 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1). Abaikan puncak dengan area kurang dari 10% dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1).

**Penetapan kadar**

Larutkan sediaan setara dengan 0,3 g niklosamid anhidrat dengan dimetilformamid, lakukan titrasi bebas air, menggunakan tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M dan tentukan titik-akhir secara potensiometrik. Setiap ml tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M setara dengan 32,71 mg  $C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$ .

**Penyimpanan**

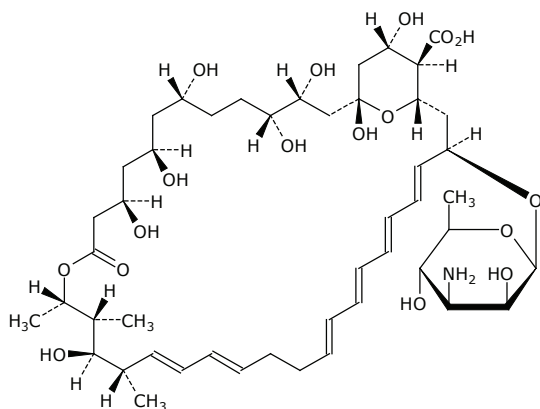
Niklosamid tablet harus dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Nistatin

*Nystatin*

C<sub>47</sub>H<sub>75</sub>NO<sub>17</sub>

BM: 926

[1400-61-9]

### Definisi

Zat anti jamur yang diperoleh dari peragian *Streptomyces noursei*. Mengandung terutama tetraen, komponen utama adalah (1S,3R,4R,7R,9R,11R,15S,16R,17R,18S,19E,21E,25E,27E,29E,31E,33R,35S,36R,37S)-33-[(3-amino-3,6-dideoksi-β-D-manopiranosil)oksi]-1,3,4,7,9,11,17,37-oktahidroksi-15,16,18-trimetil-13-okso-14,39-dioksabisiklo[33.3.1]nonatriakonta-19,21,25,27,29,31-heksan-36-asam karboksilat (nistatin A1).

Mengandung tidak kurang dari 4400 IU/mg dan 5000 IU/mg (zat kering) untuk pemberian oral.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk berwarna kuning atau kecoklatan, higroskopis.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air dan alkohol, mudah larut dalam dimetilformamid dan dimetilsulfoksida, sukar larut dalam metanol.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: B, E.

Identifikasi kedua: A, C, D.

- Periksa larutan uji pada serapan cahaya pada panjang gelombang 220–350 nm. Larutan menunjukkan 4 serapan maksimum pada panjang gelombang 230 nm, 291 nm, 305 nm dan 319 nm dan suatu bahu pada panjang gelombang 280 nm. Perbandingan serapan pada panjang gelombang 291 nm dan 319 nm dengan serapan maksimum pada panjang gelombang 305 nm berturut-turut adalah 0,61–0,73 dan 0,83–0,96. Perbandingan serapan pada panjang gelombang 230 nm di bahu pada panjang gelombang 280 nm adalah 0,83–1,25.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar nistatin.
- Pada 2 mg, tambah 0,1 ml asam hidroklorida. Terbentuk warna coklat.
- Pada 2 mg, tambah 0,1 ml asam sulfat. Terbentuk warna coklat menjadi violet.
- Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji komposisi.

**Hasil.** Waktu tambat puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama dengan puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

**Serapan cahaya.** Larutkan 0,10 g dalam campuran 5,0 ml asam asetat glasial, 50 ml metanol dan encerkan dengan metanol sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan metanol sampai batas volume 100,0 ml. Tentukan serapan maksimum pada panjang gelombang 305 nm dalam 30 menit, tidak kurang dari 0,60.

**Komposisi.** Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 20 mg zat uji dalam dimetilsulfoksida sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar nistatin dalam dimetil sulfoksida sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan 20 mg zat uji dalam 25 ml metanol dan encerkan dengan air sampai batas volume 50 ml. Pada 10,0 ml larutan, tambah 2,0 ml asam hidroklorida encer. Diamkan selama 1 jam pada suhu kamar.

**Larutan standar (c).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dengan dimetilsulfoksida sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml dengan dimetil sulfoksida sampai batas volume 10,0 ml.

**Kolom.** End-capped oktadesilsilil (tidak aktif) 5 μm, ukuran 15 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 30°C.

**Fase gerak A.** Asetonitril dan amonium asetat (3,85 g/l) (29:71 v/v).

**Fase gerak B.** Amonium asetat (3,85 g/l) dan asetonitril (40:60 v/v).

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0–25	100	0
25–35	100 → 0	0 → 100
35–45	0	100
45–50	0 → 100	100 → 0
50–55	100	0

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 305 nm.

**Injek.** 20 μl.

**Waktu tambat.** Nistatin A1 sekitar 14 menit.

**Kesesuaian sistem larutan standar (b).** Resolusi minimum 3,5 antara 2 puncak utama (waktu tambat sekitar 13 menit dan 19 menit).

### Komposisi

**Nistatin A1.** Tidak kurang dari 85,0%.

**Campuran lain.** Tidak lebih dari 4,0%.

**Abaikan batas.** Area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c); abaikan puncak dengan waktu tambat kurang dari 2 menit.

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Pada 1,0 g memenuhi uji batas. Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 5,0%. Pada pengeringan di atas difosfor pentoksida dengan suhu 60°C dan tekanan tidak melebihi 0,1 kPa selama 3 jam sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 3,5%. Gunakan 1,0 g.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik. Larutkan zat uji dan standar nistatin secara terpisah dalam dimetilformamid, encerkan dengan campuran 5 volume dimetilformamid dan 95 volume larutan dapar pH 6,0.

#### Penyimpanan

Kedap udara, dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Anti jamur.

## Nistatin Serbuk Oral

#### Definisi

Nistatin serbuk oral mengandung nistatin dalam pembawa yang sesuai. Serbuk oral memenuhi persyaratan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut. Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

Ekstraks sediaan setara dengan 3.000.000 IU dengan larutan campuran 5 ml asam asetat glasial dan 50 ml metanol, tambahkan metanol sampai batas volume 100 ml dan saring. Encerkan 1 ml hasil saringan sampai batas volume 100 ml dengan metanol. Serapan larutan pada panjang gelombang 250—350 nm, menghasilkan tiga serapan maksimum yaitu pada panjang gelombang 291 nm, 305 nm, dan 319 nm. Perbandingan serapan maksimum pada 291 nm dengan 319 nm dengan serapan maksimum pada panjang gelombang 305 nm adalah 0,61—0,73 dan 0,83—0,96. Buat larutan blanko sebagaimana larutan uji tanpa mengandung zat yang diuji.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 5,0%. Pada pengeringan pada suhu 60°C dengan tekanan tidak lebih dari 0,7 kPa selama 3 jam. Gunakan 1 g.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik, menggunakan larutan uji: Uji harus dilakukan terlindungi cahaya. Kocok sediaan setara 200.000 IU nistatin, dengan 50 ml dimetilformamid selama 1 jam. Sentrifus, larutkan 10 ml dalam larutan (yang mengandung kalium dihidrogen orthofosfat 9,56% b/v dan kalium hidroksida 1 M 11,5% v/v) sampai batas volume 200 ml.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Nistatin Tablet

#### Definisi

Nistatin tablet mengandung nistatin dalam pembawa yang sesuai.

Tablet nistatin memenuhi persyaratan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

Ekstrak sediaan setara dengan 3.000.000 IU dengan larutan campuran 5 ml asam asetat glasial dan 50 ml metanol, tambah metanol sampai batas volume 100 ml dan saring. Encerkan 1 ml hasil saringan sampai batas volume 100 ml dengan metanol. Serapan larutan pada 250—350 nm, menghasilkan tiga serapan maksimum yaitu pada 291 nm, 305 nm, dan 319 nm. Perbandingan serapan maksimum pada 291 nm dengan 319 nm dengan serapan maksimum pada 305 nm adalah 0,61—0,73 dan 0,83—0,96.

**Disintegrasikan.** Waktu disintegrasikan tidak lebih dari 30 menit, dengan menggunakan larutan asam hidroklorida 0,6% v/v. Jika tablet tidak bisa hancur, bilas dengan menggunakan dapar fosfat pH 6,8. Disintegrasikan tablet 30 menit.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 5,0%. Pada pengeringan dengan suhu 60°C dan tekanan tidak lebih dari 0,7 kPa selama 3 jam. Gunakan 1 g.

#### Penetapan kadar/potensi

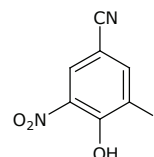
Lakukan seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik, menggunakan larutan uji: Aduk sediaan setara dengan 200.000 IU nistatin, dengan 50 ml dimetilformamid selama 1 jam. Sentrifus, larutkan 10 ml dalam larutan (yang mengandung kalium dihidrogen orthofosfat 9,56% b/v dan kalium hidroksida 1 M) sampai batas volume 200 ml.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Nitroksinil

*Nitroxinil*



$C_7H_3IN_2O_3$

BM: 290

[1689-89-0]

#### Definisi

Nitroksinil adalah 4-hidroksi-3-iodo-5-nitro benzonitrit.

Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_7H_3IN_2O_3$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.



**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kuning.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol (96%), sukar larut dalam 60 bagian eter, larut dalam larutan alkali hidroksida.

**Identifikasi**

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar nitroksinil.
- Spektrum serapan ultraviolet antara 220—350 nm. Gunakan larutan 0,002% b/v.
- Panaskan dengan asam sulfat sampai terbentuk uap iodum.

**Suhu lebur.** 136°—139°C.

**Iodium anorganik.** Pada 0,40 g, tambah 0,35 g N-etilglukamin dan 10 ml air, aduk. Tambah 4 ml asam sulfat 1 M dan ekstraksi 3 kali masing-masing dengan 10 ml kloroform. Pada ekstrak, tambah 1 ml larutan hidrogen peroksida dan 1 ml kloroform. Aduk selama 2 menit dan biarkan sampai terpisah.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g

**Sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.

**Penetapan kadar**

Lakukan dengan metode pembakaran labu oksigen, menggunakan larutan uji: zat uji 25 mg. Setiap ml natrium tiosulfat 0,02 M setara 0,9667 mg  $C_7H_{15}FN_3O_3$ .

**Penyimpanan**

Dilindungi dari cahaya.

**Khasiat**

Obat cacing.

**Nitroksinil Injeksi****Definisi**

Nitroksinil injeksi adalah suspensi steril nitroksinil dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung nitroksinil tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

- Spektrum serapan ultraviolet antara 240—350 nm dari larutan yang diperoleh pada penetapan kadar menunjukkan serapan maksimum hanya pada panjang gelombang 271 nm.
- Panaskan 0,5 ml dengan 3 ml asam sulfat, terbentuk uap iodida.

**Keasaman-kebasaan.** pH 5,0—7,0.

**Iodium anorganik.** Encerkan sediaan setara dengan 0,4 g nitroksinil dalam air sampai batas volume 100 ml.

Pada 10 ml, tambah 4 ml asam sulfat 1 M dan lanjutkan pengujian seperti pada nitroksinil dimulai dari “dan ekstraksi dengan 10 ml...”

**Penetapan kadar**

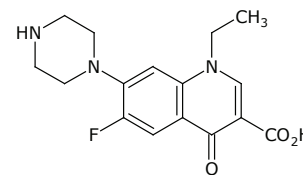
Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Pada sediaan setara 1,7 g nitroksinil, tambah natrium hidroksida 0,01 M sampai batas volume 500 ml. Encerkan 20 ml larutan ini dengan natrium hidroksida 0,01 M sampai batas volume 500 ml. Pada 5 ml larutan, tambah natrium hidroksida 0,01 M sampai volume 100 ml. Ukur pada panjang gelombang 271 nm.

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup, kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Norfloksasin**  
*Norfloxacin*

$C_{16}H_{18}FN_3O_3$

BM: 319,3

[70458-96-7]

**Definisi**

Norfloksasin mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari asam 1-etil-6-fluoro-4-okso-7-(piperazin-1-il)-1,4-dihidrokuinolin-3-karboksilat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kuning pucat, higroskopik, peka cahaya.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, sukar larut dalam aseton dan alkohol.

**Identifikasi**

Spektrum serapan inframerah sama dengan spektrum serapan standar norfloksasin.

**Kejernihan larutan.** Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam natrium hidroksida (4 g/l) dalam metanol R sampai batas volume 50 ml. Larutan tidak lebih opalesen dibandingkan standar II dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar B<sub>7</sub>.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub>.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 40 mg zat uji

dalam campuran metanol dan metilen klorida sampai volume 5 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan campuran metanol dan metilen klorida sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 1 ml larutan uji (b) dengan campuran metanol dan metilen klorida sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan 4,0 mg standar norfloksasin ketidakh murnian A dalam dalam campuran metanol dan metilen klorida sampai volume 5 ml. Encerkan 1 ml larutan dengan larutan uji (b) sampai volume 2 ml.

**Fase gerak.** Campuran 8 volume air, 14 volume dietilamin, 20 volume toluen, 40 volume kloroform dan 40 volume metanol.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari larutan uji (a) dan setiap larutan standar. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa pada cahaya ultraviolet (254—365 nm).

Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), selain bercak utama, tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,2%) dan tidak lebih dari tiga bercak.

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b), perbandingan nilai respon faktor ketidakh murnian A dan norfloksasin adalah 1,2.

**Logam berat.** Pada 2,0 g memenuhi uji batas D untuk logam berat (15 ppm). Gunakan 3 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g dalam cawan platina.

#### Penetapan kadar

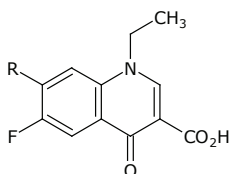
Larutkan 0,240 g dalam 80 ml asam asetat anhidrat. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M, tentukan titik akhir secara potensiometrik.

Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 31,93 mg  $C_{16}H_{18}FN_3O_3$ .

#### Penyimpanan

Kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakh murnian



A. R = Cl: Asam 7-kloro-1-etil-6-fluoro-4-okso-1,4-dihidrokuinolin-3-karboksilat.

B. R = NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>: Asam 7-[(2-aminoetil) amino]-1-etil-6-fluoro-4-okso-1,4-dihidrokuinolin-3-karboksilat.

#### Khasiat

Anti-bakteri.

### Norfloksasin Larutan Oral

#### Definisi

Norfloksasin larutan oral mengandung norfloksasin dalam pembawa yang sesuai.

Larutan oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan larutan oral dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

Periksa kromatogram yang diperoleh pada penetapan kadar. Waktu tambat larutan uji sama dengan waktu tambat larutan standar norfloksasin.

#### Penetapan kadar

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan standar.** Larutkan 5 mg standar norfloksasin dengan 100 ml asetonitril atau air. Saring, jika perlu encerkan dengan fase gerak.

**Larutan uji.** Encerkan sediaan setara dengan 5 mg norfloksasin dengan 100 ml asetonitril atau air. Saring, jika perlu encerkan dengan fase gerak.

**Kolom.** C-18 atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 6 bagian metanol dengan 10 bagian campuran 5% asam asetat glasial dalam air dan 1 bagian asetonitril.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 257 nm atau 330 nm.

2. Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan standar.** Larutkan 10 mg standar norfloksasin dengan 10 ml NaOH 0,1 M atau metanol.

**Larutan uji.** Larutkan sediaan setara dengan 10 mg norfloksasin dengan NaOH 0,1 M atau metanol sampai batas volume 100 ml.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 270 nm atau 330 nm.

#### Penyimpanan

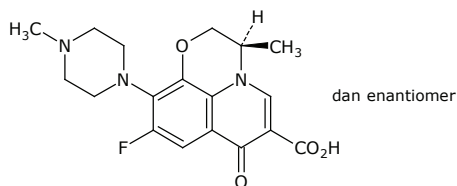
Dalam wadah, kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Ofloksasin

*Ofloxacin*



$C_{18}H_{20}FN_3O_4$

BM: 361,4

[82419-36-1]

### Definisi

Ofloksasin mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari (RS)-9-fluoro-3-metil-10-(4-metilpiperazin-1-il)-7-okso-2,3-dihidro-7H-pirido [1,2,3-de]-1,4-benzoksazin-6-karboksilik asam, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal kuning pucat.

**Kelarutan.** Sukar larut dalam air dan metanol, larut dalam asam asetat glasial, sukar larut sampai larut dalam metilen klorida.

### Identifikasi

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar ofloksasin.

**Serapan.** Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 100 ml. Serapan larutan pada panjang gelombang 440 nm tidak lebih besar dari 0,25.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,3 g dalam campuran 10 volume metanol dan 40 volume metilen klorida sampai volume 10 ml. Rotasi jenis adalah  $-0,10^\circ$  sampai  $+0,10^\circ$ .

**Ketidakhurnian A.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub>.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,25 g zat uji dalam campuran 10 volume metanol dan 40 volume metilen klorida sampai volume 5,0 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 10 mg standar ofloksasin ketidakhurnian A dalam campuran 10 volume metanol dan 40 volume metilen klorid sampai batas volume 100,0 ml.

**Fase gerak.** Campuran 1 volume asam asetat glasial, 1 volume air dan 2 volume etil asetat.

Totolkan 10  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm).

Bercak ketidakhurnian A pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji tidak lebih kuat dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (0,2%).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 10,0 mg zat uji dalam campuran 10 volume asetonitril dan 60 volume air sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan campuran 10 volume asetonitril dan 60 volume air sampai batas volume 50,0 ml. Encerkan 1,0 ml dengan campuran 10 volume asetonitril dan 60 volume air sampai batas volume 10,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10,0 mg standar ofloksasin ketidakhurnian E dalam campuran 10 volume asetonitril dan 60 volume air sampai batas volume 100,0 ml. Campur 10,0 ml larutan ini dengan 5,0 ml larutan uji. Encerkan dengan campuran 10 volume asetonitril dan 60 volume air sampai batas volume 50,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan ini dengan campuran 10 volume asetonitril dan 60 volume air sampai batas volume 50,0 ml.

**Kolom.** Silika oktadesilsilil 5  $\mu$ m, ukuran 15 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 45°C.

**Fase gerak.** Larutkan 4,0 g amonium asetat dan 7,0 g natrium perklorat dalam 1300 ml air. Atur pH 2,2 dengan asam fosfat. Tambah 240 ml asetonitril dan aduk.

**Laju alir.** Atur laju alir sehingga waktu tambat ofloksasin sekitar 20 menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 294 nm.

**Injek.** 10  $\mu$ l larutan standar (b). Lakukan penyesuaian sensitivitas sehingga tinggi kedua puncak utama pada kromatogram yang diperoleh adalah 50% dari skala-penuh perekam. Uji tidak absah kecuali jika, resolusi antara puncak ketidakhurnian E dan ofloksasin adalah 2,0.

**Injek.** 10  $\mu$ l larutan uji dan larutan standar (a).

**Waktu uji.** 2,5 kali waktu tambat puncak utama. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, area puncak, yang merupakan bagian dari puncak utama, tidak lebih besar dari area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,2%); jumlah area semua puncak tidak lebih besar dari 2,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,5%). Abaikan puncak dengan area kurang dari 0,1 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a).

**Logam berat.** Pada 2,0 g zat uji memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,2%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C selama 4 jam sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

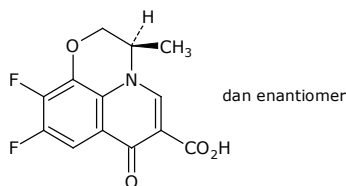
**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

### Penetapan kadar

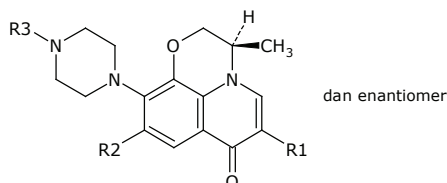
Larutkan 0,3 g dalam 100 ml asam asetat anhidrat. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M. Tentukan titik-akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 36,14 mg  $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ .

**Penyimpanan**

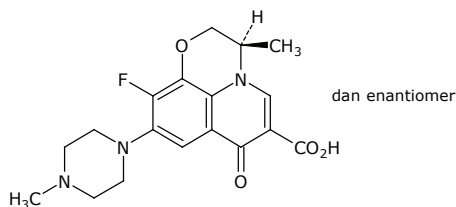
Kedap udara, dilindungi dari cahaya.

**Ketidakhurnian**

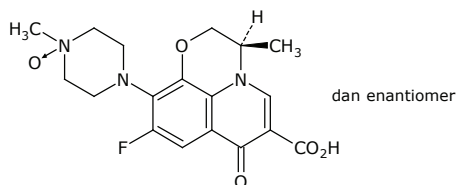
- A. Asam (RS)-9,10-difluoro-3-metil-7-okso-2,3-dihidro-7H-pirido[1,2,3-da]-1,4-benzoksazina-6-karboksilat (FPA).



- B. R1 = H, R2 = F, R3 = CH<sub>3</sub>: (RS)-9-fluoro-3-metil-10-(4-metilpiperazin-1-il)-2,3-dihidro-7H-pirido[1,2,3-da]-1,4-benzoksazin-7-on.
- C. R1 = CO<sub>2</sub>H, R2 = H, R3 = CH<sub>3</sub>: Asam (RS)-3-metil-10-(4-metilpiperazin-1-il)-7-okso-2,3-dihidro-7H-pirido[1,2,3-da]-1,4-benzoksazin-6-karboksilat.
- E. R1 = CO<sub>2</sub>H, R2 = F, R3 = H: Asam (RS)-9-fluoro-3-metil-7-okso-10-(piperazin-1-il)-2,3-dihidro-7H-pirido[1,2,3-da]-1,4-benzoksazin-6-karboksilat.



- D. Asam (RS)-10-fluoro-3-metil-9-(4-metilpiperazin-1-il)-7-okso-2,3-dihidro-7H-pirido[1,2,3-da]-1,4-benzoksazin-6-karboksilat.



- F. 4-[(RS)-6-karboksi-9-fluoro-3-metil-7-okso-2,3-dihidro-7H-pirido[1,2,3-da]-1,4-benzoksazin-10-il]-1-oksidometilpiperazina.

**Khasiat**

Anti bakteri.

**Ofloksasin Larutan Oral****Definisi**

Ofloksasin larutan oral adalah larutan ofloksasin dalam air atau pembawa yang sesuai. Larutan oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan larutan oral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti dalam penetapan kadar. Waktu tambat sama dengan standar ofloksasin.

**Kebasaan.** pH 9,0—13,0.

**Logam berat.** Memenuhi uji batas logam berat. Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Penetapan kadar**

Lakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Sediaan setara dengan 100 mg ofloksasin, tambah 100 ml asetonitril atau natrium hidroksida encer. Encerkan larutan dengan natrium hidroksida encer sampai konsentrasi 10 µg/ml, saring dan ukur serapan dengan pada panjang gelombang maksimum.
- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Sediaan setara dengan 100 mg ofloksasin, tambah 100 ml asetonitril atau air, jika perlu, encerkan hasil saringan dengan fase gerak.

**Kolom.** C-18 atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 6 volume metanol dengan 10 volume campuran asam asetat glasial 5% dalam air dan 1 volume asetonitril.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 257 nm atau 330 nm.

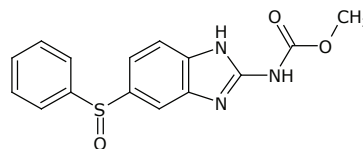
**Injek.** 20 µl.

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup, dan terlindung dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Oksfendazol**  
*Oxfendazole*

C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S

BM: 315,4

[53716-50-0]

**Definisi**

Oksfendazol adalah metil [5-(fenilsulfinil)-1H-benzimidazol-2-il]karbammat.

Mengandung tidak kurang dari 97,5% dan tidak lebih dari 100,5%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, sukar larut dalam alkohol dan metilen klorida. Terlihat polimorfism.

**Identifikasi**

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar oksfendazol. Jika spektrum yang diperoleh zat padat menunjukkan perbedaan, larutkan zat uji dan standar secara terpisah dalam alkohol, uapkan sampai kering dan catat spektrum baru dari residu.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Pada 10 ml larutan uji, tambah 0,25 ml larutan hidrogen peroksida pekat dan encerkan dengan fase gerak sampai batas volume 25 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 5,0 mg standar fenbendazol dan 10,0 mg standar oksfendazol ketidakhurnian B dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml dengan fase gerak sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan dan encerkan 5 mg standar oksfendazol ketidakhurnian D dalam fase gerak sampai volume 20 ml (larutan digunakan untuk identifikasi ketidakhurnian D).

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5 µm, ukuran 0,25 m x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 36 volume asetonitril dan 64 volume natrium pentansulfonat (2 g/l, atur pH 2,7 dengan asam sulfat 2,8% v/v).

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek.** 20 µl.

**Waktu uji.** 4 kali waktu tambat oksfendazol.

**Waktu tambat.** Oksfendazol sekitar 6,5 menit.

**Kesesuaian sistem larutan standar (b).** Resolusi minimum 4,0 antara 2 puncak utama ketidakhurnian C (puncak ke-1) dan oksfendazol (puncak ke-2).

**Batas**

**Ketidakhurnian A.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (1,0%).

**Ketidakhurnian B.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (2,0%).

**Ketidakhurnian C atau D.** Untuk setiap ketidakhurnian, tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (1,0%).

**Ketidakhurnian lain.** Tidak lebih dari 0,1 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,1%).

**Total.** Tidak lebih dari 3 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (3,0%).

**Abaikan batas.** 0,05 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,05%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5% pada pengeringan dengan suhu 105°C dan tekanan tidak lebih 0,7 kPa sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,2%. Gunakan 1,0 g.

**Penetapan kadar**

Larutkan 0,25 g dalam 3 ml asam format anhidrat. Tambah 40 ml asam asetat anhidrat. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M, tentukan titik akhir secara potensiometrik.

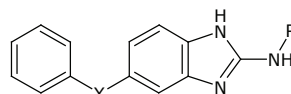
Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 31,54 mg C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S.

**Penyimpanan**

Dilindungi dari cahaya.

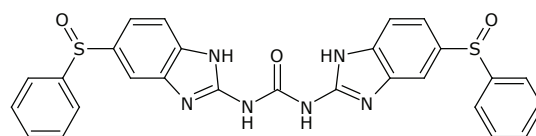
**Ketidakhurnian**

A. Fenbendazol.



B. X = SO<sub>2</sub>, R = CO<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>: Metil [5-(fenilsulfonil)-1H-benzimidazol-2-il]karbamat.

C. X = SO, R = H: 5-(fenilsulfonil)-1H-benzimidazol-2-amina.



D. N,N'-bis[5-(fenilsulfonil)-1H-benzimidazol-2-il] urea.

**Khasiat**

Obat cacing.

**Oksfendazol Suspensi Oral****Definisi**

Oksfendazol serbuk oral mengandung oksfendazol dalam pembawa yang sesuai.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut:

Mengandung oksfendazol tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

Larutkan sediaan setara dengan 0,1 g oksfendazol

dalam 50 ml metanol, kocok selama 15 menit, sentrifus, uapkan sampai volume 2 ml, dinginkan dan saring. Bilas residu dengan 2 ml air, keringkan pada 105°C dan tekanan tidak lebih dari 2,7 kPa. Pada residu lakukan uji berikut.

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar oksfendazol.
- Serapan ultraviolet (220—350 nm), menggunakan sediaan dalam metanol 0,001% b/v menunjukkan dua maksimal pada panjang gelombang 228 nm dan 297 nm, dengan nilai serapan pada 228 nm sekitar 1,4 dan 297 nm sekitar 0,55.

**Senyawa sejenis.** Memenuhi uji seperti yang tertera pada oksfendazol, menggunakan:

**Larutan (1).** Larutkan sediaan setara dengan 0,1 g oksfendazol dalam 20 ml campuran 4 volume etil asetat dan 1 volume asam asetat glisial, kocok dan saring.

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan (1) dengan campuran pelarut yang sama sampai batas volume 50 ml.

**Larutan (3).** Standar fenbendazol 0,005% b/v.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Dispersikan sediaan setara dengan 0,1 g oksfendazol dalam 15 ml air, tambah 200 ml metanol dan aduk. Sonikasi selama 15 menit, dinginkan, tambah metanol sampai batas volume 500 ml dan saring. Encerkan 4 ml hasil saringan dengan metanol sampai batas volume 100 ml. Ukur pada panjang gelombang 296 nm.

#### Penyimpanan

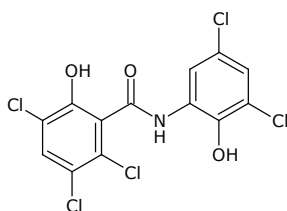
Dalam wadah, tertutup kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

### Oksiklozanid

*Oxyclozanide*



$C_{13}H_6Cl_5NO_3$

BM: 401,5

[2277-92-1]

#### Definisi

Oksiklozanid adalah 3,3',5,5'-pentakloro-2'-hidroksisalisililamid.

Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari  $C_{13}H_6Cl_5NO_3$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk krem atau krem pucat.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, mudah larut dalam aseton, larut dalam etanol (96%) dan sukar larut dalam kloroform.

#### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar oksiklozanid.
- Serapan cahaya, pada panjang gelombang 250—350 nm dari metanol 0,003% b/v menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 300 nm sekitar 0,76.
- Suhu lebur 208°C.

**Ion klorida.** Larutkan 2 g dalam 100 ml metanol, tambah 10 ml asam nitrat 1,5M. Titrasi dengan perak nitrat 0,1 M, tentukan titik akhir secara potensiometrik. Tidak lebih dari 1,4 ml yang diperlukan (0,25%).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Larutkan zat uji 0,1% b/v dalam metanol dan encerkan dengan air (yang mengandung 0,1% v/v asam ortofosfat).

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan (1) dengan fase gerak sampai batas volume 100 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5  $\mu$ m (Hypersil ODS atau yang sesuai), ukuran 20 cm  $\times$  5 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran metanol dan air yang mengandung 0,1% v/v asam ortofosfat (campuran 62 volume metanol dan 38 volume air).

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 300 nm.

Waktu tambat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) area puncak lain selain puncak utama kurang dari puncak utama tidak lebih besar dari sepertiga area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (0,3%). Area puncak lain selain puncak utama waktu tambat lebih besar dari puncak utama tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (1%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0%. Pada pengeringan dengan suhu 60°C dan tekanan tidak lebih 0,7 kPa. sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,2%.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,25 g dalam 75 ml piridin anhidrat dan lewatkan dengan gas nitrogen melalui larutan selama 5 menit. Lakukan titrasi bebas air, gunakan tetrabutylamonium hidroksida 0,1M sebagai penitar dan tentukan titik akhir secara potensiometrik. Setiap ml tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M setara dengan 20,07 mg  $C_{13}H_6Cl_5NO_3$ .

#### Khasiat

Obat cacing.

## Oksiklozanid Suspensi Oral

### Definisi

Oksiklozanid suspensi oral adalah suspensi dari oksiklozanid dalam air yang mengandung zat pembawa yang sesuai. Suspensi oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk cairan oral dan persyaratan berikut.

Mengandung oksiklozanid,  $C_{13}H_6Cl_5NO_3$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Pada uji A untuk senyawa sejenis, bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan 10  $\mu$ l dari larutan (1) sesuai dengan yang diperoleh dengan larutan (3).

### Senyawa sejenis

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G.

**Fase gerak.** Campur 5 volume asam asetat glasial, 20 volume aseton dan 60 volume petroleum benzin (titik didih, 60°—80°).

**Larutan (1).** Sediaan setara dengan oksiklozanid 1,0% b/v dalam aseton, sentrifus.

**Larutan (2).** Standar asam 3,5,6-trikloro-2-hidroksibenzoat 0,05% b/v dalam aseton.

**Larutan (3).** Standar dari oksiklozanid 1,0% b/v dalam aseton.

Totolkan secara terpisah 40  $\mu$ l dan 10  $\mu$ l larutan (1), 4  $\mu$ l larutan (2) dan 10  $\mu$ l larutan (3). Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan larutan besi (III) klorida heksahidrat 3,0% b/v dalam metanol. Pada kromatogram yang diperoleh dengan 40  $\mu$ l dari larutan (1), bercak asam 3,5,6-trikloro-2-hidroksibenzoat tidak lebih kuat dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (0,5%).

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G.

**Fase gerak.** Campuran 1 volume amonia 13,5 M, 10 volume metanol dan 100 volume etil asetat.

**Larutan (1).** Sediaan setara dengan oksiklozanid 1,0% b/v dalam aseton, sentrifus.

**Larutan (2).** Standar asam 3,5,6-trikloro-2-hidroksibenzoat 0,050% b/v dalam aseton.

Totolkan secara terpisah 40  $\mu$ l dari larutan (1) dan 4  $\mu$ l dari larutan (2). Angkat lempeng, keringkan di udara dan semprot dengan pereaksi fosfomolibdotungstat. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) bercak 2-amino-4,6-diklorofenol tidak lebih kuat dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (0,4%).

### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Lindungi larutan dari cahaya pada saat penetapan kadar. Pada sediaan setara 60 mg

oksiklozanid, tambah 60 ml asam asetat glasial-metanol dan dididihkan di atas penangas air. Aduk selama 20 menit, dinginkan sampai 2°C dan encerkan dengan asam asetat glasial-metanol sampai batas volume 100 ml. Saring, encerkan 5 ml hasil saringan sampai batas volume 100 ml asam-metanol. Ukur serapan pada panjang gelombang 300 nm.

### Penyimpanan

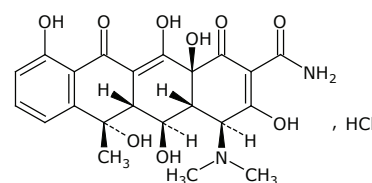
Dalam wadah tertutup, kedap dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Oksitetrasiklin Hidroklorida

*Oxytetracycline Hydrochloride*



$C_{22}H_{24}N_2O_9$ , HCl

BM: 496,9

[2058-46-0]

### Definisi

Oksitetrasiklin hidroklorida adalah (4S,4aR,5S,5aR,6S,12aS)-4-(Dimetilamino)-3,5,6,10,12,12a-heksahidroksi-6-metil-1,11-diokso-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidrotetrasen-2-karboksamid hidroklorida. Diperoleh pertumbuhan dari *Streptomyces rimosus* atau dengan cara yang sesuai.

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 102,0% (zat anhidrat).

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal kuning, higroskopik.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol (96%).

### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 5 mg zat uji dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 5 mg standar oksitetrasiklin hidroklorida dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 5 mg standar oksitetrasiklin hidroklorida, 5 mg tetrasiklin hidroklorida dan 5 mg minosiklin hidroklorida dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Lempeng.** Oktadesilsilil silika gel  $F_{254}$ .

**Fase gerak.** Campuran 20 volume asetonitril, 20 volume metanol dan 60 volume asam oksalat (63 g/l, atur pH 2 dengan amoniak pekat).

Totolkan 1  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa pada cahaya ultraviolet (254 nm).

**Kesesuaian sistem.** Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan 3 bercak yang terpisah.

**Hasil.** Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai tempat dan ukuran bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

- B. Pada 2 mg, tambah 5 ml asam sulfat, terbentuk warna merah. Tambah 2,5 ml air, terbentuk warna kuning.  
C. Larutan memberikan reaksi klorid.

**pH.** 2,3—2,9. Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 10 ml.

**Rotasi jenis.**  $-188^\circ$  sampai  $-200^\circ$  (zat anhidrat). Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai volume 25,0 ml.

**Serapan cahaya.** Pada panjang gelombang 270—290 nm, menunjukkan maksimum pada panjang gelombang 353 nm (zat anhidrat). Larutkan dan encerkan 20,0 mg dalam larutan dapar klorid pH 2,0 (larutkan 6,57 g kalium klorida dalam air, tambahkan 119,0 ml asam hidroklorida 0,1 M dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml) sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 10,0 ml larutan dengan larutan dapar klorid pH 2,0 sampai batas volume 100,0 ml.

**Serapan cahaya ketidakhurnian.** Serapan cahaya maksimum pada panjang gelombang 430 nm adalah 0,50 (zat anhidrat). Larutkan 20,0 g dalam campuran 1 volume asam hidroklorida 1 M dan 99 volume metanol sampai volume 10,0 ml. Serapan cahaya maksimum pada panjang gelombang 490 nm adalah 0,20 (zat anhidrat). Larutkan 0,1 g dalam campuran 1 volume asam hidroklorida 1 M dan 99 volume metanol sampai volume 10,0 ml. Ukur serapan dalam rentang 1 jam.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 20,0 mg zat uji dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20,0 mg standar oksitetrasiklin dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 20,0 mg standar 4-epioksitetrasiklin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 20,0 mg standar tetrasiklin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai 25,0 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan 8,0 mg standar  $\alpha$ -apo-oksitetrasiklin dalam 5 ml natrium hidroksida 0,01 M dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 100,0 ml.

**Larutan standar (e).** Larutkan 8,0 mg standar  $\beta$ -apo-oksitetrasiklin dalam 5 ml natrium hidroksida 0,01 M

dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 100,0 ml.

**Larutan standar (f).** Campur 1,5 ml larutan standar (a), 1,0 ml larutan standar (b), 3,0 ml larutan standar (c), 3,0 ml larutan standar (d) dan 3,0 ml larutan standar (e) dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar (g).** Campuran 1,0 ml larutan standar (b), 4,0 ml larutan standar (c) dan 40,0 ml larutan standar (e) dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 200,0 ml.

**Kolom.** Kopolimer stiren-divinilbenzen (8  $\mu$ m), ukuran 0,25 m x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu  $60^\circ\text{C}$ .

**Fase gerak A.** Larutkan dan encerkan 30,0 g 2-metil-2-propanol dengan 200 ml air, tambah 60 ml larutan dapar fosfat 0,33 M pH 7,5, 50 ml tetrabutylamonium hidrogen sulfat (10 g/l, atur pH 7,5 dengan natrium hidroksida) dan 10 ml larutan natrium edetat (0,4 g/l, atur pH 7,5 dengan natrium hidroksida) dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000,0 ml.

**Fase gerak B.** Larutkan dan encerkan 100,0 g 2-metil-2-propanol dengan 200 ml air, tambah 60 ml larutan dapar fosfat 0,33 M pH 7,5, 50 ml tetrabutylamonium hidrogen sulfat (10 g/l, atur pH 7,5 dengan natrium hidroksida) dan 10 ml larutan natrium edetat (0,4 g/l, atur pH 7,5 dengan natrium hidroksida) dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000,0 ml.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0—15	70	30
15—30	30	70
30—45	70	30

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek.** 20  $\mu$ l larutan uji dan larutan standar (f) dan (g).

**Kesesuaian sistem larutan standar (f).** Resolusi minimum 4,0 antara puncak ketidakhurnian A (puncak ke-1) dan oksitetrasiklin (puncak ke-2); minimum 5,0 antara puncak oksitetrasiklin dan ketidakhurnian B (puncak ke-3); dan minimum 3,5 antara puncak ketidakhurnian D (puncak ke-4) dan ketidakhurnian E (puncak ke-5). Jika diperlukan, lakukan penyesuaian perbandingan fase gerak A dan B atau atur program elusi gradien.

**Faktor simetri.** Maksimum 1,25 untuk puncak oksitetrasiklin.

#### Batas

**Ketidakhurnian A.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (g) (0,5%).

**Ketidakhurnian B.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (g) (2,0%).

**Ketidakhurnian C.** Tidak lebih dari 4 kali area



puncak ketidakmurnian A pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (g) (2,0%).

**Jumlah ketidakmurnian D, E dan F.** Tidak lebih dari area puncak ketidakmurnian E pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (g) (2,0%).

**Abaikan batas.** 0,02 kali area puncak oksitetrasiklin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (f) (0,1%).

**Logam berat.** Tidak lebih dari 50 ppm. Gunakan 2,5 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Air.** Tidak lebih dari 2,0%. Gunakan 0,5 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih 0,5%. Gunakan 1,0 g.

**Endotoksin bakteri.** Kurang dari 0,4 IU/mg.

### Penetapan potensi/kadar

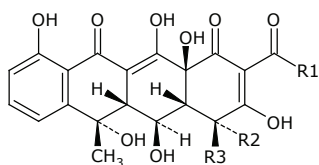
Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis dengan modifikasi berikut: injek larutan uji dan larutan standar (a).

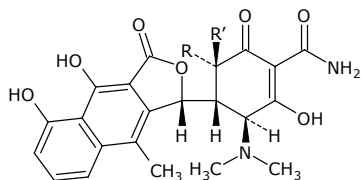
### Penyimpanan

Kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

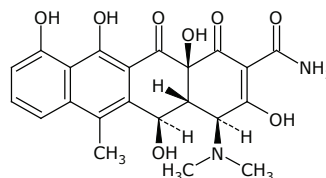
### Ketidakmurnian



- A.  $R_1 = \text{NH}_2$ ,  $R_2 = \text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  $R_3 = \text{H}$ : (4R,4aR,5S,5aR,6S,12aS)-4-(dimetilamino)-3,5,6,10,12,12a-heksahidroksi-6-metil-1,11-diokso-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidrotetrasena-2-karboksamida (4-epioksitetrasiklin).
- B.  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{N}(\text{CH}_3)_2$ : (4S,4aR,5S,5aR,6S,12aS)-2-acetil-4-(dimetilamino)-3,5,6,10,12,12a-heksahidroksi-6-metil-4a,5a,6,12a-tetrahidrotetrasena-1,11(4H,5H)-dion (2-asetil-2-dekarbamoiloksitetrasiklin).
- C. Tetrasiklin.



- D.  $R = \text{OH}$ ,  $R' = \text{H}$ : (3S,4S,5S)-4-[(1R)-4,5-dihidroksi-9-metil-3-okso-1,3-dihidronafto[2,3-c]furan-1-il]-3-(dimetilamino)-2,5-dihidroksi-6-oksosikloheks-1-enekarboksamida ( $\alpha$ -apo-oksitetrasiklin).
- E.  $R = \text{H}$ ,  $R' = \text{OH}$ : (3S,4S,5R)-4-[(1R)-4,5-dihidroksi-9-metil-3-okso-1,3-dihidronafto[2,3-c]furan-1-il]-3-(dimetilamino)-2,5-dihidroksi-6-oksosikloheks-1-enekarboksamida ( $\beta$ -apo-oksitetrasiklin).



- F. (4S,4aR,5R,12aS)-4-(dimetilamino)-3,5,10,11,12a-pentahidroksi-6-metil-1,12-diokso-1,4,4a,5,12,12a-heksahidrotetrasena-2-karboksamida (anhidro-oksitetrasiklin).

### Khasiat

Antibiotik.

## Oksitetrasiklin Infus Intramamari (Masa Menyusui)

### Definisi

Oksitetrasiklin infus intramamari (masa menyusui) adalah sediaan steril mengandung oksitetrasiklin hidroklorida.

Infus intramamari memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan infus intramamari dan persyaratan berikut.

Mengandung oksitetrasiklin hidroklorida,  $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_9$ , HCl tidak kurang dari 95% dan tidak lebih dari 110% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

- A. Memenuhi uji A untuk identifikasi yang diuraikan dalam oksitetrasiklin injeksi menggunakan larutan (1).

**Infus larutan oksitetrasiklin hidroklorida kompleks dengan magnesium.** Sediaan oksitetrasiklin hidroklorida 0,05% b/v dalam metanol.

**Infus larutan oksitetrasiklin hidroklorida.** Campur sediaan setara dengan 10 mg oksitetrasiklin hidroklorida dengan 10 ml petroleum benzin (titik didih,  $100^\circ\text{--}120^\circ\text{C}$ ), diamkan dan buang lapisan petroleum benzin. Larutkan residu dalam 20 ml metanol.

- B. Pada 0,5 ml, tambah 0,1 ml asam sulfat. Terbentuk warna merah. Tambah 1 ml air. Terbentuk warna kuning.

- C. **Untuk infus larutan oksitetrasiklin hidroklorida kompleks dengan magnesium** Sediaan oksitetrasiklin hidroklorida 1,0% b/v dalam metanol. Larutan memberikan reaksi klorid.

**Untuk infus larutan oksitetrasiklin hidroklorida.** Campur sediaan setara dengan 50 mg oksitetrasiklin hidroklorida dengan 5 ml petroleum benzin (titik didih,  $100^\circ\text{--}120^\circ\text{C}$ ), buang lapisan petroleum benzin. Larutkan residu dalam 10 ml air dan saring. Hasil saringan memberikan reaksi klorid.

### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Untuk infus larutan oksitetrasiklin hidroklorida kompleks dengan magnesium.**

**Larutan (1).** Pada sediaan setara dengan 0,1 g oksitetrasiklin hidroklorida, tambah 20 ml 0,1 M asam hidroklorida-metanol (encerkan 1 volume asam hidroklorida 1 M sampai 10 volume dengan metanol), campur dan encerkan dengan pelarut yang sama sampai batas volume 200 ml. Sentrifus dan encerkan 1 volume supernatan dengan pelarut yang sama sampai 10 volume.

**Untuk infus larutan oksitetrasiklin hidroklorida.**

**Larutan (1).** Dispersikan sediaan setara dengan 0,1 g oksitetrasiklin hidroklorida dalam 10 ml petroleum benzin (titik didih, 60°–80°C) dan ekstraksi dua kali, masing-masing dengan 10 ml asam hidroklorida 0,1 M. Saring ekstrak dan tambah asam hidroklorida-metanol 0,1 M sampai batas volume 200 ml. Sentrifus dan encerkan 1 volume supernatan dengan pelarut yang sama sampai 10 volume.

**Larutan (2).** Larutkan 50 mg standar oksitetrasiklin dalam 10 ml asam hidroklorida-metanol 0,1 M, tambah pelarut yang sama sampai batas volume 100 ml. Encerkan 1 volume dengan pelarut yang sama sampai 10 volume.

**Larutan (3).** Standar 4-epioksitetrasiklin 0,1% b/v dalam asam hidroklorida-metanol 0,1 M.

**Larutan (4).** Standar tetrasiklin hidroklorida 0,1% b/v dalam asam hidroklorida-metanol 0,1 M.

**Larutan (5).** Encerkan campuran 3 ml larutan standar oksitetrasiklin [0,05% b/v dalam asam hidroklorida-metanol 0,1 M, 1 ml larutan (3) dan 3 ml larutan (4)] dengan pelarut yang sama sampai batas volume 25 ml.

**Kolom.** PLRP-S 100A, 10 µm ukuran 25 cm × 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 60°C.

**Fase gerak.** Pada 50,0 g 2-metilpropan-2-ol, tambah 200 ml air, 60 ml dapar fosfat 0,33 M pH 7,5, 50 ml larutan tetrabutylamonium hidrogen sulfat 1,0% b/v. Atur pH 7,5 dengan natrium hidroksida 2 M dan 10 ml dinatrium edetat 0,04% b/v. Atur pH 7,5 dengan natrium hidroksida 2 M dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek.** Larutan (5).

Uji tidak absah kecuali jika:

**Faktor resolusi.** Antara puncak pertama (4-epioksitetrasiklin) dan puncak kedua (oksitetrasiklin) adalah 4,0.

**Faktor resolusi.** Antara puncak kedua dan puncak ketiga (tetrasiklin) adalah 5,0 (jika diperlukan kurangi isi dari 2-metilpropan-2-ol dalam fase gerak untuk meningkatkan resolusi).

**Faktor simetri.** Puncak oksitetrasiklin tidak lebih dari 1,25.

Hitung kadar dari  $C_{22}H_{24}N_2O_9 \cdot HCl$  menggunakan standar oksitetrasiklin  $C_{22}H_{24}N_2O_9$ . Setiap mg  $C_{22}H_{24}N_2O_9$  setara dengan 1,079 mg  $C_{22}H_{24}N_2O_9 \cdot HCl$ .

**Penyimpanan**

Dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Oksitetrasiklin Injeksi

**Definisi**

Oksitetrasiklin injeksi adalah larutan steril oksitetrasiklin hidroklorida dalam air untuk injeksi atau pembawa lain yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung oksitetrasiklin hidroklorida tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari potensi yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G 60, atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 6 volume air, 35 volume metanol dan 59 volume diklorometan. Atur pH 7,0 dinatrium edetat 10% v/v dengan natrium hidroksida 10 M.

**Larutan (1).** Oksitetrasiklin hidroklorida 0,05% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Standar oksitetrasiklin hidroklorida 0,05% b/v dalam metanol.

**Larutan (3).** Standar oksitetrasiklin hidroklorida 0,05% b/v dan demeklosiklin hidroklorida 0,05% b/v dalam metanol.

Totolkan 1 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dibawah cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan (1) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh larutan (2). Uji tidak absah kecuali pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

B. Pada 0,5 mg, tambah 2 ml asam sulfat, terbentuk warna *krimson*. Tambah 1 ml air. Terbentuk warna kuning.

C. Memberikan reaksi klorida.

**Keasaman.** Larutan 10% b/v, pH 2,0-3,0.

**Kejernihan warna larutan.** Larutan 10% b/v adalah jernih kekuningan.

**Serapan cahaya ketidakh murnian.** Serapan pada panjang gelombang 430 nm dari larutan 0,2% b/v dalam metanol tidak lebih dari 0,75. Serapan pada panjang 490 nm larutan 1% b/v dalam metanol, tidak lebih dari 0,4.

**Pirogen.** Memenuhi uji pirogen. Gunakan 5 mg/kg berat badan.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi menurut cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.

2. Dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Zat uji mengandung oksitetrasiklin 0,005% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Larutan (2).** Standar oksitetrasiklin 0,005% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Larutan (3).** Standar epiksitetrasiklin 0,1% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Larutan (4).** Standar tetrasiklin hidroklorida 0,1% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Larutan (5).** Encerkan campuran (yang mengandung 1,5 ml standar oksitetrasiklin 0,1% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M, 1 ml larutan (3) dan 3 ml larutan (4)) dengan asam hidroklorida sampai volume 25 ml.

**Kolom.** PLRP-S 100 A 8 — 10 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Pada 50,0 g 2-metilpropan-2-ol, tambah 200 ml air, 60 ml dapar fosfat 0,33 M pH 7,5, 50 ml tetrabutylamonium hidrogen sulfat 1,0% b/v (atur pH 7,5 dengan natrium hidroksida 2 M) dan 10 ml dinatrium edetat 0,04% b/v (atur pH 7,5 dengan natrium hidroksida 2M) dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Injek larutan (5). Uji tidak absah kecuali jika, faktor resolusi antara puncak pertama (4-epitetrasiklin) dan puncak kedua (oksitetrasiklin) adalah 4,0; faktor resolusi antara puncak kedua dan puncak ketiga (tetrasiklin) adalah 5,0 (jika perlu kurangi isi 2-metilpropan-2-ol dalam fase gerak untuk meningkatkan faktor resolusi); faktor simetri dari puncak oksitetrasiklin tidak lebih dari 1,25.

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Oksitetrasiklin Kapsul

#### Definisi

Oksitetrasiklin kapsul mengandung oksitetrasiklin hidroklorida.

Kapsul memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan kapsul dan persyaratan berikut.

Mengandung oksitetrasiklin hidroklorida tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

- A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G 60, atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 6 volume air, 35 volume metanol dan 59 volume diklormetan. Atur pH 7,0 dinatrium edetat 10% v/v dengan natrium hidroksida 10 M.

**Larutan (1).** Oksitetrasiklin hidroklorida 0,05% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Standar oksitetrasiklin hidroklorida 0,05% b/v dalam metanol.

**Larutan (3).** Standar oksitetrasiklin hidroklorida 0,05% b/v dan demeklosiklin hidroklorida 0,05% b/v dalam metanol.

Totolkan 1 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dibawah cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan (1) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh larutan (2). Uji tidak absah kecuali pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

- B. Pada 0,5 mg, tambah 2 ml asam sulfat, terbentuk warna krimson. Tambah 1 ml air. Terbentuk warna kuning.

- C. Memberikan reaksi klorida.

**Disolusi.** Memenuhi uji disolusi.

**Serapan cahaya ketidakh murnian.** Serapan pada panjang gelombang 430 nm dari larutan 0,2% b/v dalam metanol tidak lebih dari 0,75. Serapan pada panjang 490 nm larutan 1% b/v dalam metanol, tidak lebih dari 0,4.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi menurut cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.

2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Zat uji mengandung oksitetrasiklin 0,005% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Larutan (2).** Standar oksitetrasiklin 0,005% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Larutan (3).** Standar epiksitetrasiklin 0,1% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Larutan (4).** Standar tetrasiklin hidroklorida 0,1% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Larutan (5).** Encerkan campuran [yang mengandung 1,5 ml standar oksitetrasiklin 0,1% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M, 1 ml larutan (3) dan 3 ml larutan (4)] dengan asam hidroklorida sampai volume 25 ml.

**Kolom.** PLRP-S 100 A 8—10  $\mu\text{m}$ , ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Pada 50,0 g 2-metilpropan-2-ol, tambah 200 ml air, 60 ml dapar fosfat 0,33 M pH 7,5, 50 ml tetrabutylamonium hidrogen sulfat 1,0% b/v (atur pH 7,5 dengan natrium hidroksida 2 M) dan 10 ml dinatrium edetat 0,04% b/v (atur pH 7,5 dengan natrium hidroksida 2M) dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Injek larutan (5), Uji tidak absah kecuali jika faktor resolusi antara puncak pertama (4-epitetrasiklin) dan puncak kedua (oksitetrasiklin) adalah 4,0; faktor resolusi antara puncak kedua dan puncak ketiga (tetrasiklin) adalah 5,0 (jika perlu kurangi isi 2-metilpropan-2-ol dalam fase gerak untuk meningkatkan faktor resolusi); faktor simetri dari puncak oksitetrasiklin tidak lebih dari 1,25.

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Oksitetrasiklin Serbuk Oral

### Definisi

Oksitetrasiklin serbuk oral mengandung oksitetrasiklin hidroklorida dalam pembawa yang sesuai.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut.

Mengandung oksitetrasiklin hidroklorida tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G 60, atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 6 volume air, 35 volume metanol dan 59 volume diklormetan. Atur pH 7,0 dinatrium edetat 10% v/v dengan natrium hidroksida 10M.

**Larutan (1).** Oksitetrasiklin hidroklorida 0,05% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Standar oksitetrasiklin hidroklorida 0,05% b/v dalam metanol.

**Larutan (3).** Standar oksitetrasiklin hidroklorida 0,05% b/v dan demeklosiklin hidroklorida 0,05% b/v dalam metanol.

Totolkan 1  $\mu\text{l}$  secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dibawah cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan (1) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh larutan (2). Uji tidak absah kecuali pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

B. Pada 0,5 mg, tambah 2 ml asam sulfat, terbentuk warna krimson. Tambah 1 ml air. terbentuk warna kuning.

C. Memberikan reaksi klorida.

**Serapan cahaya ketidakmurnian.** Serapan pada panjang gelombang 430 nm dari larutan 0,2% b/v dalam metanol tidak lebih dari 0,75. Serapan pada panjang 490 nm larutan 1% b/v dalam metanol, tidak lebih dari 0,4.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 3%. Pada pengeringan dengan suhu 60°C selama 3 jam sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi menurut cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Zat uji mengandung oksitetrasiklin 0,005% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Larutan (2).** Standar oksitetrasiklin 0,005% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Larutan (3).** Standar epiksitetrasiklin 0,1% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Larutan (4).** Standar tetrasiklin hidroklorida 0,1% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Larutan (5).** Encerkan campuran [yang mengandung 1,5 ml standar oksitetrasiklin 0,1% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M, 1 ml larutan (3) dan 3 ml larutan (4)] dengan asam hidroklorida sampai volume 25 ml.

**Kolom.** PLRP-S 100 A 8—10  $\mu\text{m}$ , ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Pada 50,0 g 2-metilpropan-2-ol, tambah 200 ml air, 60 ml dapar fosfat 0,33 M pH 7,5, 50 ml tetrabutylamonium hidrogen sulfat 1,0% b/v (atur pH 7,5 dengan natrium hidroksida 2 M) dan 10 ml dinatrium edetat 0,04% b/v (atur pH 7,5 dengan natrium hidroksida 2M) dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek larutan (5).** Uji tidak absah kecuali jika faktor resolusi antara puncak pertama (4-epitetrasiklin) dan puncak kedua (oksitetrasiklin) adalah 4,0; faktor resolusi antara puncak kedua dan puncak ketiga (tetrasiklin) adalah 5,0 (jika perlu kurangi isi 2-metilpropan-2-ol dalam fase gerak untuk meningkatkan faktor resolusi); faktor simetri dari puncak oksitetrasiklin tidak lebih dari 1,25.

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Oksitetrasiklin Tablet

### Definisi

Oksitetrasiklin tablet mengandung oksitetrasiklin hidroklorida dalam pembawa yang sesuai. Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut. Mengandung oksitetrasiklin hidroklorida tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G 60, atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 6 volume air, 35 volume metanol dan 59 volume diklormetan. Atur pH 7,0 dinatrium edetat 10% v/v dengan natrium hidroksida 10 M.

**Larutan (1).** Oksitetrasiklin hidroklorida 0,05% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Standar oksitetrasiklin hidroklorida 0,05% b/v dalam metanol.

**Larutan (3).** Standar oksitetrasiklin hidroklorida 0,05% b/v dan demeklosiklin hidroklorida 0,05% b/v dalam metanol.

Totolkan 1 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dibawah cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan (1) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh larutan (2). Uji tidak absah kecuali pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

B. Pada 0,5 mg, tambah 2 ml asam sulfat, terbentuk warna krimson. Tambah 1 ml air. Terbentuk warna kuning.

C. Memberikan reaksi klorida.

**Disolusi.** Memenuhi uji disolusi.

### Penetapan potensi/kadar

Lakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi menurut cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Zat uji mengandung oksitetrasiklin 0,005% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Larutan (2).** Standar oksitetrasiklin 0,005% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Larutan (3).** Standar epiksetrasiklin 0,1% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Larutan (4).** Standar tetrasiklin hidroklorida 0,1% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Larutan (5).** Encerkan campuran [yang mengandung 1,5 ml standar oksitetrasiklin 0,1% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M, 1 ml larutan (3) dan 3 ml larutan (4)] dengan asam hidroklorida sampai 25 ml.

**Kolom.** PLRP-S 100 A 8-10µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Pada 50,0 g 2-metilpropan-2-ol, tambah 200 ml air, 60 ml dapar fosfat 0,33 M pH 7,5, 50 ml tetrabutylamonium hidrogen sulfat 1,0% b/v (atur pH 7,5 dengan natrium hidroksida 2 M) dan 10 ml dinatrium edetat 0,04% b/v (atur pH 7,5 dengan natrium hidroksida 2M) dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Injek larutan (5), Uji tidak absah kecuali jika faktor resolusi antara puncak pertama (4-epitetrasiklin) dan puncak kedua (oksitetrasiklin) adalah 4,0; faktor resolusi antara puncak kedua dan puncak ketiga (tetrasiklin) adalah 5,0 (jika perlu kurangi isi 2-metilpropan-2-ol dalam fase gerak untuk meningkatkan faktor resolusi); faktor simetri dari puncak oksitetrasiklin tidak lebih dari 1,25.

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Oksitosin

*Oxytocin*

H-Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub>

C<sub>43</sub>H<sub>66</sub>N<sub>12</sub>O<sub>12</sub>S<sub>2</sub>

BM: 1007

[50-56-6]

### Definisi

Oksitosin adalah siklik nonapeptid mempunyai struktur dari hormon yang diproduksi oleh kelenjar

*pituitari lobus posterior* bagian belakang menstimulasi kontraksi uterus dan pengeluaran air susu pada mamalia. Diperoleh dengan sintesis kimia dan dalam bentuk kering beku sebagai asetat.

Mengandung tidak kurang dari 93,0% dan tidak lebih dari 102,0% dari peptida  $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$ , dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat, zat bebas asam asetat. Setiap mg oksitosin peptid ( $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$ ) setara dengan 600 IU dari aktifitas biologi.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih, higroskopik.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air dan larutan asam asetat encer dan etanol.

### Identifikasi

Periksa kromatogram yang diperoleh dalam penetapan kadar. Waktu tambat puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji adalah sama dengan puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar.

**pH.** 3,0—6,0. Larutkan dan encerkan 0,2 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 10,0 ml.

**Asam-asam amino.** Lakukan dengan metode Amino Analiser. Standarisasi peralatan dengan campuran yang mengandung glisin dan bentuk L- dari asam amino dalam tabel berikut:

Lisin	Treonin	Alanin	Leusin
Histidin	Serin	Valin	Tirosin
Arginin	Asam glutamat	Metionin	Fenilalanin
Asam aspartat	Prolin	Isoleusin	

bersama-sama dengan setengah molaritas dari jumlah L-sistin. Untuk validasi metoda, gunakan DL-norleusin sebagai standar internal.

**Larutan uji.** Pada 1,0 mg zat uji dalam tabung, tambah asam hidroklorida 50% v/v. Tempatkan tabung pada suhu  $-5^{\circ}C$ , tekanan di bawah 133 Pa dan sumbat. Panaskan pada suhu  $110^{\circ}$ — $115^{\circ}C$  selama 16 jam. Dinginkan, pindahkan ke dalam labu 10 ml dengan bantuan air dan evaporasi sampai kering di atas kalium hidroksida dengan pengurangan tekanan. Pindahkan residu dalam air dan evaporasi sampai kering di atas kalium hidroksida dengan pengurangan tekanan, ulangi sekali tahap ini. Pindahkan residu dalam larutan dapar fosfat yang sesuai untuk asam amino analiser yang digunakan dan encerkan sampai satu volume dengan larutan dapar fosfat. Ukur satu volume dengan asam amino analiser.

Nyatakan asam amino dalam mol. Hitung kandungan asam amino, ambil 1—6 dari jumlah mol asam aspartat, asam glutamat, prolin, glisin, isoleusin dan leusin. Nilai batas asam aspartat 0,95—1,0, asam glutamat 0,95—1,05, prolin 0,95—1,05, glisin 0,95—1,05, leusin 0,90—1,10, isoleusin 0,90—1,10, tirosin 0,7—1,05, setengah sistin 1,4—2,1, tidak lebih asam-asam amino lain.

**Peptida sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dalam penetapan kadar, menggunakan:

**Injek.** 50  $\mu$ l larutan uji. Pada kromatogram yang diperoleh area puncak lain, selain puncak utama, tidak lebih besar dari 1,5% total area puncak. Jumlah dari area semua puncak, selain puncak utama, tidak lebih besar dari 5% total area puncak. Abaikan puncak lain dengan pelarut dan puncak lain dengan area kurang dari 0,1% puncak utama.

**Asam asetat.** 6,0%—10,0%. Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dalam penetapan kadar, menggunakan larutan uji: Larutkan dan encerkan 15,0 mg zat uji dalam campuran 5 volume fase gerak B dan 95 volume fase gerak A sampai volume 10,0 ml.

**Air.** Tidak lebih dari 5,0%. Gunakan 50 mg.

**Endotoksin bakteri.** Kurang dari 300 IU/mg.

### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Siapkan 0,25 mg/ml zat uji dalam natrium dihidrogen fosfat (15,6 g/l).

**Larutan standar.** Larutkan 1 vial standar oksitosin dalam natrium dihidrogen fosfat (15,6 g/l) sampai konsentrasi 0,25 mg/ml.

**Larutan resolusi.** Larutkan 1 vial standar oksitosin/campuran validasi standar desmopresin dalam 500  $\mu$ l natrium dihidrogen fosfat (15,6 g/l).

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5  $\mu$ m, ukuran 12,5 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Fase gerak A.** Natrium dihidrogen fosfat (15,6 g/l).

**Fase gerak B.** Campuran 1 volume asetonitril dan 1 volume air.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)	Keterangan
0—30	70 → 40	30 → 60	Gradien linier
30—30,1	40 → 70	60 → 30	Atur komposisi eluen
30,1—45	70	30	Re-ekuilibrasasi

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 220 nm.

Ekuilibrasasi kolom dengan campuran 30 volume fase gerak B dan 70 volume fase gerak A.

**Injek.** 25  $\mu$ l larutan resolusi. Waktu tambat oksitosin sekitar 7,5 menit dan desmopresin sekitar 10 menit. Uji tidak absah kecuali jika, resolusi antara puncak desmopresin dan oksitosin adalah 5,0.

**Injek.** 25  $\mu$ l larutan uji dan larutan standar.

Hitung oksitosin ( $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$ ) dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji dan larutan standar.

**Penyimpanan**

Kedap udara dan dilindungi dari cahaya, simpan pada suhu 2°—8°C.

**Khasiat**

Oksitosik.

**Oksitosin Injeksi****Definisi**

Oksitosin injeksi mengandung oksitosin dalam air untuk injeksi atau dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang tertera dalam persyaratan untuk sediaan injeksi dan persyaratan berikut.

Mengandung oksitosin tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Cairan tidak berwarna.

**Identifikasi**

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G.

**Fase gerak.** Campuran 1 volume asam asetat glasial, 6 volume air dan 30 volume diklorometan.

**Larutan (A).** Larutkan dan encerkan isi vial dalam natrium dihidrogen ortofosfat 1,56% b/v sampai konsentrasi 17 µg/ml standar oksitosin.

**Larutan (1).** Evaporasi 5 ml injeksi menggunakan rotavapor pada suhu 30°C, dan larutkan residu dalam 0,5 ml air.

**Larutan (yang mengandung 10 IU/ml) (2).** Evaporasi 5 ml larutan (A) menggunakan rotavapor pada suhu 30°C, dan larutkan residu dalam 0,5 ml air.

Totolkan 1 µl secara terpisah pada lempeng dari larutan (1) dan (2). Angkat lempeng dan keringkan dengan menyemprotkan udara dingin.

**Larutan (yang mengandung 5 IU/ml) (3).** Evaporasi 2,5 ml larutan (A) menggunakan rotavapor pada suhu 30°C, dan larutkan residu dalam 0,5 ml air.

Totolkan 2 µl secara terpisah pada lempeng dari larutan (1) dan (2). Angkat lempeng dan keringkan dengan menyemprotkan udara dingin.

Untuk sediaan yang mengandung 1 IU/ml menggunakan larutan (2): Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari larutan (1) dan (2). Angkat lempeng dan keringkan dengan menyemprotkan udara dingin.

Jika perlu ekuilibrasikan segera selama 30 menit dengan fase gerak segar. Setelah penotolan, keringkan dan semprot dengan udara panas selama 10 menit. Dinginkan dan semprot kembali dengan fosfomolibdotungstat sampai cairan lempeng

menyebar sempurna. Jika perlu ekuilibrasikan segera selama 30 menit dengan amonia 13,5 M selama 5 menit. Kembangkan kembali dan keringkan dengan udara panas. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan (1) sesuai pada tempat, ukuran, warna dan lebih kuat intensitas warnanya dengan kromatogram yang diperoleh larutan (2).

B. Pada penetapan kadar, kromatogram yang diperoleh larutan (1) menunjukkan waktu tambat puncak yang sama dengan puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan (2).

**Keasaman.** pH 3,5—4,5.

**Penetapan kadar**

Lakukan seperti pada penetapan kadar oksitosin, menggunakan:

**Larutan uji.** Gunakan sediaan injeksi.

**Larutan standar.** Larutkan standar oksitosin dalam larutan natrium dihidrogen ortofosfat 1,65% b/v sampai konsentrasi sama dengan larutan uji.

**Injek.** 200 µl dari setiap larutan.

**Penyimpanan**

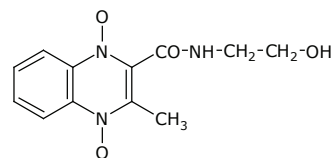
Dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Olakuindok**

*Olaquindox*



$C_{12}H_{13}N_3O_4$

BM: 263,3

[23696-28-8]

**Definisi**

Olakuindok mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0%,  $C_{12}H_{13}N_3O_4$  dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk halus kuning. Terdekomposisi pada suhu 208°C.

**Kelarutan.** Sukar larut dalam air, mudah larut dalam larutan 25% asam klorida, sangat mudah larut dalam asam asetat (99%) sambil dipanaskan. Praktis tidak larut dalam etanol, kloroform, dimetilformamid. Larut dalam dimetilsulfoksid (sambil dipanaskan).

**Identifikasi**

Pada kromatogram yang diperoleh pada penetapan kadar, waktu tambat yang diperoleh larutan uji sama dengan waktu tambat yang diperoleh dengan standar olakuindok.

**Penetapan kadar**

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 5 mg olakuindok dengan campuran 7 volume metanol dan 3 volume air sampai batas volume 100 ml dan saring.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 5 mg standar olakuindok dengan campuran 7 volume metanol dan 3 volume air sampai batas volume 100 ml dan saring.

**Kolom.** Bondapak C-18, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 7 volume metanol dan 3 volume air.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 380 nm.

**Penyimpanan**

Dilindung dari cahaya.

**Khasiat**

Anti-bakteri.

**Olakuindok Serbuk Oral****Definisi**

Olakuindok serbuk oral mengandung olakuindok dalam pembawa yang sesuai.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut.

Mengandung olakuindok tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

Periksa kromatogram yang diperoleh pada penetapan kadar. Waktu tambat larutan uji sama dengan waktu tambat larutan standar olakuindok.

**Penetapan kadar**

Lakukan penetapan kadar dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan setara dengan 5 mg olakuindok dengan campuran 7 volume metanol dan 3 volume air sampai batas volume 100 ml dan sentrifus, gunakan supernatan. Jika perlu encerkan supernatan.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 5 mg standar olakuindok dengan campuran 7 volume metanol dan 3 volume air sampai batas volume 100 ml dan sentrifus, gunakan supernatan. Jika perlu encerkan supernatan.

Alirkan masing-masing supernatan larutan uji dan larutan standar ke dalam kolom Seppak C18 atau yang sesuai. Tampung eluat larutan uji dan larutan standar kemudian masing-masing saring menggunakan kertas saring 0,45 µm.

**Kolom.** Bondapak C185 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 7 bagian metanol dan 3 bagian air.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 380 nm.

**Injek.** 20 µl dari setiap larutan.

**Penyimpanan**

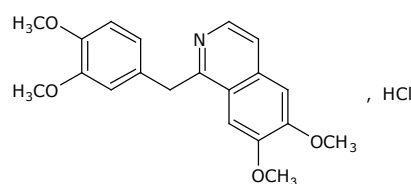
Dalam wadah tertutup kedap dan dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Papaverin Hidroklorida

*Papaverine Hydrochloride*



$C_{20}H_{21}NO_4$ , HCl

BM: 375,9

[61-25-6]

**Definisi**

Papaverin hidroklorida adalah 1-(3,4-dimetoksibenzil)-6,7-dimetoksisokuinolin hidroklorida. Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Agak sukar larut dalam air dan sukar larut dalam alkohol.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: A, D.

Identifikasi kedua: B, C, D.

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar papaverin hidroklorida.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 5 mg zat uji dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 5 mg standar papaverin hidroklorida dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Dietilamin-etil asetat-toluen (10:20:70 v/v/v).

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 105°C selama 2 jam. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar.



C. Pada 10 ml larutan S, teteskan 5 ml amoniak dan biarkan selama 10 menit. Bilas dan keringkan endapan. Suhu lebur endapan 146°—149°C.

D. Memberikan reaksi klorida.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 0,4 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 20 ml, jika perlu lakukan pemanasan.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar BY<sub>6</sub>.

**pH.** 3,0—4,0 untuk larutan S.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan:

**Pelarut.** Campuran asetonitril dan fase gerak A (20:80 v/v).

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 20,0 mg zat uji dalam pelarut sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan pelarut sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml dengan pelarut sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan 12 mg noskapin dalam 1,0 ml larutan uji dan encerkan dengan pelarut sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Oktilsilil (tidak aktif) 5 µm, ukuran 0,25 m x 4,0 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak A.** Kalium dihidrogen fosfat 3,4 g/l, atur pH 3,0 dengan asam fosfat encer.

**Fase gerak B.** Asetonitril.

**Fase gerak C.** Metanol.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 238 nm.

**Injek.** 10 µl.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v/v)	Fase gerak B (% v/v/v)	Fase gerak C (% v/v/v)
0—5	85	5	10
5—12	85 → 60	5	10 → 35
12—20	60	5	35
20—24	60 → 40	5 → 20	35 → 40
24—27	40	20	40
27—32	40 → 85	20 → 5	40 → 10
32—40	85	5	10

**Waktuambat relatif.** Papaverin sekitar 23,4 menit, ketidakhurnian E sekitar 0,7, ketidakhurnian C sekitar 0,75, ketidakhurnian B sekitar 0,8, ketidakhurnian A sekitar 0,9, ketidakhurnian F sekitar 1,1, ketidakhurnian D sekitar 1,2.

**Kesesuaian sistem larutan standar (b).** Resolusi minimum 1,5 antara puncak ketidakhurnian A dan papaverin.

#### Batas

**Faktor-koreksi.** Untuk perhitungan isi, mengalikan area puncak ketidakhurnian berikut oleh faktor-

koreksi: ketidakhurnian C = 2,7; ketidakhurnian D = 0,5; ketidakhurnian A = 6,2.

**Ketidakhurnian lain.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,1%).

**Total.** Tidak lebih dari 5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,5%).

**Abaikan batas.** 0,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,05%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

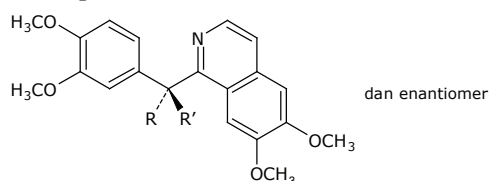
**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan residu dari susut pengeringan.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,3 g dalam campuran 5,0 ml asam hidroklorida 0,01 M dan 50 ml alkohol. Titrasi secara potensiometrik, menggunakan natrium hidroksida 0,1 M. Baca volume yang ditambahkan antara 2 titik infleksi. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 37,59 mg C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>ClO<sub>4</sub>.

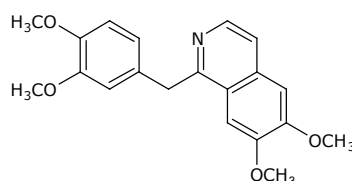
#### Ketidakhurnian

A. Noskapina.

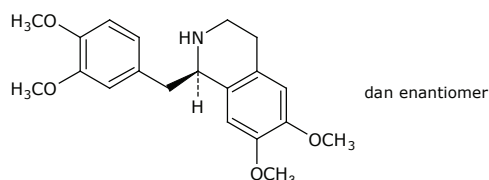


B. R = OH, R' = H: (RS)-(3,4-dimetoksifenil)(6,7-dimetoksiisokuinolin-1-il)metanol (papaverinol).

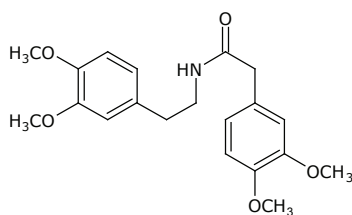
D. R + R' = O: (3,4-dimetoksifenil)(6,7-dimetoksiisokuinolin-1-il)metanon (papaveraldin).



C. 1-(3,4-dimetoksilbensil)-6,7-dimetoksi-3,4-dihidroisokuinolin (dihidropapaverin).



E. (1RS)-1-(3,4-dimetoksilbensil)-6,7-dimetoksi-1,2,3,4-tetrahidroisokuinolin (tetrahidropapaverin).



F. 2-(3,4-dimetoksifenil)-N-[2-(3,4-dimetoksifenil)etil]asetamida.

### Khasiat

Antispasmodik.

## Papaverin Injeksi

### Definisi

Papaverin injeksi adalah larutan steril papaverin hidroklorida dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung papaverin hidroklorida,  $C_{20}H_{21}NO_4 \cdot HCl$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

A. Sediaan injeksi setara dengan 60 mg papaverin hidroklorida, tambah 2 ml etanol (96%), evaporasikan diatas penangas air dengan bantuan aliran nitrogen. Keringkan residu pada suhu  $105^{\circ}C$  selama 2 jam. Spektrum serapan inframerah sediaan sesuai dengan spektrum serapan standar papaverin hidroklorida.

B. Memberikan reaksi klorida.

**Keasaman.** pH 2,0—4,0.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan(1).** Sediaan papaverin hidroklorida 0,06% b/v dalam metanol (50%).

**Larutan (2).** Larutkan 1 volume larutan(1) sampai 100 volume dengan metanol (50%).

**Larutan (3).** Standar papaverin hidroklorida 0,0005% b/v dan noskapiin 0,005% b/v dalam fase gerak.

**Kolom.** Phenomenex Luna C (18), 25 cm  $\times$  4,6 mm dengan pra-kolom yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 700 ml metanol yang mengandung 2,22 g natrium dioktil sulfo-suksinat dan 1,36 g natrium asetat dalam 100 ml air, encekkan sampai batas volume 1 liter dengan air,atur pH 5,5 menggunakan asam asetat glasial.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 250 nm. Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang dihasilkan dari larutan(3), faktor resolusi antara puncak papaverin hidroklorida dan noskapiin sedikitnya 3,0. Pada kromatogram yang dihasilkan dari larutan (1), jumlah keseluruhan dari area puncak kedua tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang dihasilkan dari larutan (2) (1,0%).

### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti dalam uji senyawa sejenis, menggunakan:

**Larutan (1).** Standar papaverin hidroklorida 0,0045% b/v dalam metanol (50%).

**Larutan (2).** Zat uji papaverin hidroklorida 0,0045% b/v dalam metanol (50%).

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dari larutan(3), faktor resolusi antara puncak papaverin hidroklorida dan noskapiin adalah 3,0.

### Penyimpanan

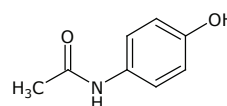
Papaverin injeksi harus dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Parasetamol

*Paracetamol*



$C_8H_9NO_2$

BM: 151,2

[103-90-2]

### Definisi

Parasetamol adalah N-(4-hidroksifenil) asetamid.

Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Agak sukar larut dalam air, mudah larut dalam alkohol, sangat sukar larut dalam metilen klorida.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, C.

Identifikasi kedua: A, B, D, E.

A. Suhu lebur  $168^{\circ}$ — $172^{\circ}C$ .

B. Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam metanol sampai batas volume 100,0 ml. Pada 1,0 ml larutan, tambah 0,5 ml asam hidroklorida (10,3 g/l) dan encerkan dengan metanol sampai batas volume 100,0 ml. Segera ukur serapan maksimum pada panjang gelombang 249 nm. Serapan spesifik maksimum adalah 860—980.

C. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar parasetamol.

D. Pada 0,1 g, tambah 1 ml asam hidroklorida, panaskan sampai mendidih selama 3 menit, tambah 1 ml air dan dinginkan dalam air es. Tidak terbentuk endapan. Tambah 0,05 ml larutan kalium dikromat (4,9 g/l). Terbentuk warna violet tetap.

E. Memberikan reaksi asetil. Panaskan di atas nyala api.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 0,2 g zat uji dalam 2,5 ml metanol [mengandung 4,6 g/l tetrabutylamonium hidroksida (400 g/l)] dan encerkan dalam campuran [dinatrium hidrogen fosfat (17,9 g/l) dan natrium dihidrogen fosfat (7,8 g/l) dengan volume yang sama] sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 50,0 ml. Encerkan 5,0 ml dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dengan fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 5,0 mg 4-aminofenol, 5 mg parasetamol dan 5,0 mg kloroasetanilid dalam metanol sampai volume 20,0 ml. Encerkan 1,0 ml dengan fase gerak sampai batas volume 250,0 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan dan encerkan 20,0 mg 4-nitrofenol dalam metanol sampai batas volume 50,0 ml. Encerkan 1,0 ml dengan fase gerak sampai batas volume 20,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktasilil 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 25 m x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 35°C.

**Fase gerak.** Campuran 375 volume larutan dinatrium hidrogen fosfat (17,9 g/l), 375 volume larutan natrium dihidrogen fosfat (7,8 g/l) dan 250 volume metanol [mengandung 4,6 g/l dalam larutan tetrabutylamonium hidroksida (400 g/l)].

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 245 nm.

**Injek.** 20  $\mu\text{l}$ .

**Waktu uji.** 12 kali waktu tambat parasetamol.

**Waktu tambat relatif.** Parasetamol sekitar 4 menit ketidakhurnian K sekitar 0,8, ketidakhurnian F sekitar 3, ketidakhurnian J sekitar 7.

**Kesesuaian sistem larutan standar (c).** Resolusi minimum 4,0 antara puncak ketidakhurnian K dan parasetamol, perbandingan puncak pengganggu minimum 50 untuk puncak ketidakhurnian J.

#### Batas

**Ketidakhurnian J.** Tidak lebih dari 0,2 kali area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (10 ppm).

**Ketidakhurnian K.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (50 ppm).

**Ketidakhurnian F.** Tidak lebih dari setengah area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (d) (0,05%).

**Ketidakhurnian lain.** Tidak lebih dari setengah area

puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,05%).

**Total ketidakhurnian lain.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,1%).

**Abaikan batas untuk perhitungan isi ketidakhurnian lain.** Area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,01%).

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam campuran 15 volume air dan 85 volume aseton sampai batas volume 20 ml. Pada 12 ml larutan memenuhi uji batas. Gunakan standar timbal (1 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5% pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

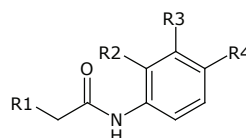
#### Penetapan kadar

Larutkan 0,3 g dalam campuran 10 ml air dan 30 ml asam sulfat encer. Dididihkan dalam refluks kondensator selama 1 jam, dinginkan dan encerkan dengan air sampai batas volume 100,0 ml. Pada 20,0 ml larutan, tambah 40 ml air, 40 g es, 15 ml asam hidroklorida encer dan 0,1 ml ferroin. Titrasi dengan serium sulfat 0,1 M sampai terbentuk warna kuning kehijauan. Lakukan titrasi blanko. Setiap ml serium sulfat 0,1 M setara dengan 7,56 mg  $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$ .

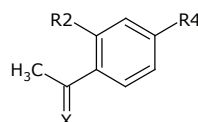
#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

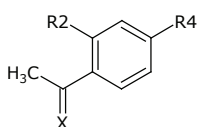
#### Ketidakhurnian



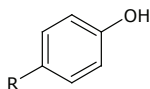
- A.  $\text{R}_1 = \text{R}_3 = \text{R}_4 = \text{H}$ ,  $\text{R}_2 = \text{OH}$ : N-(2-hidroksifenil)asetamida.
- B.  $\text{R}_1 = \text{CH}_3$ ,  $\text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{H}$ ,  $\text{R}_4 = \text{OH}$ : N-(4-hidroksifenil)propanamida.
- C.  $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{H}$ ,  $\text{R}_3 = \text{Cl}$ ,  $\text{R}_4 = \text{OH}$ : N-(3-kloro-4-hidroksifenil)asetamida.
- D.  $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{R}_4 = \text{H}$ : N-fenilasetamida.
- H.  $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{H}$ ,  $\text{R}_4 = \text{O-CO-CH}_3$ : 4-(asetilamino)fenil asetat.
- J.  $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{H}$ ,  $\text{R}_4 = \text{Cl}$ : N-(4-klorofenil)asetamida (kloroasetanilida).



- E.  $\text{X} = \text{O}$ ,  $\text{R}_2 = \text{H}$ ,  $\text{R}_4 = \text{OH}$ : 1-(4-hidroksifenil)etanon.
- G.  $\text{X} = \text{N-OH}$ ,  $\text{R}_2 = \text{H}$ ,  $\text{R}_4 = \text{OH}$ : 1-(4-hidroksifenil)etanon oksim.



I. X = O, R2 = OH, R4 = H: 1-(2-hidroksifenil)etanon.



F. R = NO<sub>2</sub>: 4-nitrofenol.

K. R = NH<sub>2</sub>: 4-aminofenol.

### Khasiat

Analgesik dan antipiretik.

## Parasetamol Serbuk Oral

### Definisi

Parasetamol serbuk oral berisi parasetamol dalam pembawa yang sesuai. Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut. 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.

### Identifikasi

- Larutkan dengan air hangat. Terbentuk larutan opalesen.
- Serapan cahaya pada panjang gelombang 230 — 350 nm, serapan maksimum larutan uji pada panjang gelombang 257 nm.
- Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika GF<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Campuran 10 volume toluen, 25 volume aseton dan 65 volume kloroform.

**Larutan (1).** Larutkan sediaan setara dengan 0,1 g parasetamol dalam 50 ml etanol 96%, kocok selama 10 menit, tambah etanol 96% sampai batas volume 100 ml dan saring.

**Larutan (2).** Standar parasetamol 0,1% b/v dalam etanol 96%.

**Larutan (3).** Larutkan dan encerkan 0,25 g 4'-kloroasetanilida dan 0,10 g parasetamol dalam etanol 96% sampai batas volume 100 ml.

Totolkan 40 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan (1), (2) dan (3). Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram larutan (1) sesuai bercak utama yang diperoleh dengan larutan (2). Uji tidak absah kecuali jika kromatogram yang dihasilkan dari larutan (3) menunjukkan dua bercak utama yang terpisah, bercak yang dihasilkan dari 4'-kloroasetanilida mempunyai nilai R<sub>f</sub> lebih tinggi.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Larutkan sediaan setara dengan 0,2 g parasetamol dalam 8 ml fase gerak, sonikasi dan tambah fase gerak sampai volume 10 ml, kocok dan saring.

**Larutan (2).** Larutkan 1 volume larutan (1) dengan fase gerak sampai 20 volume. Pada 1 volume larutan, encerkan dengan fase gerak sampai 20 volume.

**Larutan (3).** Standar 4-aminofenol 0,002% b/v dan standar parasetamol 0,002% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (4).** Zat 4'-kloroasetanilida 0,00002% b/v di dalam fase gerak.

**Kolom.** Zorbax Rx C8, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai. Suhu 35°C.

**Fase gerak.** Campuran 250 volume metanol (yang mengandung 1,15 g larutan tetrabutylamonium hidrok-sida 40% v/v) dan 375 volume dinatrium hidrogen fosfat 0,05 M.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 245 nm.

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram dari larutan (3), faktor resolusi dua puncak utama minimal 4,0.

Injek larutan (1) dan biarkan sampai 12 kali waktu tambat puncak utama. Pada kromatogram larutan (1) area puncak yang diperoleh oleh 4-aminofenol tidak lebih besar dari puncak yang diperoleh dengan larutan (3) (0,1%), area puncak yang diperoleh dari 4'-kloroasetanilida tidak lebih besar dari area puncak utama yang diperoleh dengan larutan (4) (10 ppm) dan tidak ada ketidakmurnian yang lebih besar dari area puncak utama dengan larutan (2) (0,25%).

### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Pada sediaan setara dengan 0,2 g parasetamol, tambah secara perlahan-lahan 50 ml natrium hidrok-sida 0,1 M, aduk dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml. Aduk selama 15 menit dan tambah air sampai batas volume 250 ml dan saring. Pada 10 ml, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml. Pada 10 ml, tambah 10 ml natrium hidrok-sida 0,1 M, tambah air sampai batas volume 100 ml. Ukur serapan maksimum pada panjang gelombang 257 nm. Hitung kadar C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub> dengan 715 sebagai A (1%, 1 cm) pada serapan maksimum pada panjang gelombang 257 nm.

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Parasetamol Tablet

### Definisi

Parasetamol tablet mengandung parasetamol dalam pembawa yang sesuai.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut.

Mengandung parasetamol,  $C_8H_9NO_2$  tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

- Larutkan dengan air hangat. Terbentuk larutan opalesen.
- Serapan cahaya pada panjang gelombang 230—350 nm, serapan maksimum larutan uji pada panjang gelombang 257 nm.
- Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika GF<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Campuran 10 volume toluen, 25 volume aseton dan 65 volume kloroform.

**Larutan (1).** Larutkan sediaan setara dengan 0,1 g parasetamol dalam 50 ml etanol 96%, kocok selama 10 menit, tambah etanol 96% sampai batas volume 100 ml dan saring.

**Larutan (2).** Standar parasetamol 0,1% b/v dalam etanol 96%.

**Larutan (3).** Larutkan dan encerkan 0,25 g 4'-kloroasetanilida dan 0,10 g parasetamol dalam etanol 96% sampai batas volume 100 ml.

Totolkan 40  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan (1), (2) dan (3). Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram larutan (1) sesuai bercak utama yang diperoleh dengan larutan (2).

Uji tidak absah kecuali jika kromatogram yang dihasilkan dari larutan (3) menunjukkan dua bercak utama yang terpisah, bercak yang dihasilkan dari 4'-kloroasetanilida mempunyai nilai R<sub>f</sub> lebih tinggi.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Larutkan sediaan setara dengan 0,2 g parasetamol dalam 8 ml fase gerak, sonikasi dan tambah fase gerak sampai volume 10 ml, kocok dan saring.

**Larutan (2).** Larutkan 1 volume larutan (1) dengan fase gerak sampai 20 volume. Pada 1 volume larutan, encerkan dengan fase gerak sampai 20 volume.

**Larutan (3).** Standar 4-aminofenol 0,002% b/v dan standar parasetamol 0,002% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (4).** Zat 4'-kloroasetanilida 0,00002% b/v di dalam fase gerak.

**Kolom.** Zorbax Rx C8, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai. Suhu 35°C.

**Fase gerak.** Campuran 250 volume metanol (yang mengandung 1,15 g larutan tetrabutylamonium hidroksida 40% v/v) dan 375 volume dinatrium hidrogen fosfat 0,05 M.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 245 nm.

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram dari larutan (3), faktor resolusi dua puncak utama minimal 4,0.

Injek larutan (1) dan biarkan sampai 12 kali waktu tambat puncak utama. Pada kromatogram larutan (1) area puncak yang diperoleh oleh 4-aminofenol tidak lebih besar dari puncak yang diperoleh dengan larutan (3) (0,1%), area puncak yang diperoleh dari 4'-kloroasetanilida tidak lebih besar dari area puncak utama yang diperoleh dengan larutan (4) (10 ppm) dan tidak ada ketidakmurnian yang lebih besar dari area puncak utama dengan larutan (2) (0,25%).

### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Pada sediaan setara dengan 0,2 g parasetamol, tambah secara perlahan-lahan 50 ml natrium hidroksida 0,1 M, aduk dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml. Aduk selama 15 menit dan tambah air sampai batas volume 250 ml dan saring. Pada 10 ml, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml. Pada 10 ml, tambah 10 ml natrium hidroksida 0,1 M, tambah air sampai batas volume 100 ml. Ukur serapan maksimum pada panjang gelombang 257 nm. Hitung kadar  $C_8H_9NO_2$  dengan 715 sebagai A (1%, 1 cm) pada serapan maksimum pada panjang gelombang 257 nm.

### Penyimpanan

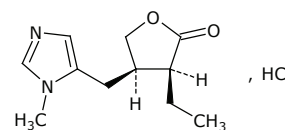
Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Pilokarpin Hidroklorida

*Pilocarpine Hydrochloride*



$C_{11}H_{16}N_2O_2$ , HCl

BM: 244,7

[54-71-7]

### Definisi

Pilokarpin hidroklorida mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari (3S,4R)-3-etil-4-[(1-metil-1H-imidazol-5-il)methyl]dihidrofuran-2(3H)-on hidroklorida, dihitung dengan standar terhadap zatkering

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau tidak berwarna, higroskopis.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air dan alkohol.

**Suhu lebur.** 203°C.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: A, B, E.

Identifikasi kedua: A, C, D, E.

- A. Memenuhi uji rotasi jenis:  
 B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar pilokarpin hidroklorida.  
 C. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Siliga gel G.

**Fase gerak.** Campuran 1 volume amonia pekat, 14 volume metanol dan 85 volume metilen klorida.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 10 mg dengan metanol sampai volume 2 ml

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 10 mg standar pilokarpin hidroklorida dengan metanol sampai volume 2 ml.

Totolkan 2 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng, keringkan dengan suhu 105°C selama 10 menit, biarkan dingin dan semprot dengan kalium iodobismutat encer. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar.

- D. Encerkan 0,2 ml larutan S dengan air sampai volume 2 ml. Tambah 0,05 ml kalium dikromat (50 g/l), 1 ml hidrogen peroksida encer dan 2 ml metilen klorida dan aduk. Pada fase organik terbentuk warna violet.  
 E. Memberikan reaksi klorid.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,50 g dengan air bebas karbondioksida sampai batas volume 50,0 ml.

**Kejernihan.** Larutan S adalah jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan dengan standar Y<sub>7</sub>.

**pH.** Larutan S pH 3,5—4,5.

**Rotasi jenis.** +89° sampai +93°. Gunakan larutan S dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 5,0 ml larutan uji dengan air sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 2,0 ml dengan air sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 5,0 mg pilokarpin nitrat untuk kesesuaian sistem dengan air sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (c).** Pada 5 ml larutan uji, tambah 0,1 ml amonia dan panaskan diatas penangas air selama 30 menit, dinginkan dan encerkan dengan air sampai batas volume 25 ml. Encerkan 3 ml dengan air sampai batas volume 25 ml. Terbentuk asam pilokarpat.

**Kolom.** Oktadesilsilik silika 5 µm, ukuran 15 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 55 volume metanol, 60 volume

asetonitril dan 885 volume tetrabutylamonium dihidrogen fosfat (0,679 g/l, atur pH 7,7 dengan amonia encer).

**Laju alir.** 1,2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 220 nm.

**Injek.** 20 µl dari setiap larutan.

**Waktu uji.** 2 kali waktu tambat puncak utama (sekitar 40 menit).

Senyawa akan terelusi sebagai berikut: asam pilokarpat, isopilocarpin dan pilokarpin.

Uji tidak absah kecuali jika, resolusi antara puncak isopilocarpin dan pilokarpin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) adalah 1,6.

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji area puncak isopilocarpin tidak lebih dari 2 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (1%); Jumlah area puncak isopilocarpin dan asam pilokarpat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (1,5%); dan jumlah area puncak yang merupakan bagian puncak utama dan puncak isopilocarpin dan asam pilokarpat tidak lebih besar dari puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,5). Abaikan batas puncak dengan area kurang dari 0,4 pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a).

**Besi.** Pada 10 ml larutan S, memenuhi uji batas besi (10 ppm). Gunakan 5 ml standar besi (1 ppm Fe) dan 5 ml air.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

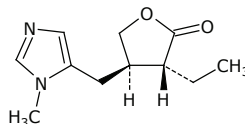
**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

**Penetapan kadar**

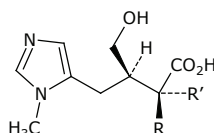
Larutkan 0,2 g dalam 50 ml alkohol dan tambah 5 ml asam hidroklorida 0,01 M. Titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 M. Tentukan titik akhir secara potensiometrik. Catat volume yang ditambahkan diantara 2 titik infleksi. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 24,47 mg of C<sub>11</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

**Penyimpanan**

Wadah tertutup dan dilindungi dari cahaya.

**Ketidakhurnian**

- A. (3R,4R)-3-ethyl-4-[(1-metil-1H-imidazol-5-il)metil]dihidrofuran-2(3H)-on (isopilocarpina).



- B. R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, R' = H: Asam (2S,3R)-2-etil-3-(hidroksi-

metil)-4-(1-metil-1H-imidazol-5-il)butanoat (asam pilokarpik).

- C. R = H, R' = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>: Asam (2R,3R)-2-etil-3-(hidroksi-metil)-4-(1-metil-1H-imidazol-5-il)butanoat (asam isopilokarpik).

### Khasiat

Kolinergik.

## Pilokarpin Tetes Mata

### Definisi

Pilokarpin tetes mata adalah larutan steril pilokarpin hidroklorida dalam air atau pembawa yang sesuai. Jika dalam kemasan untuk pemakaian lebih dari satu kali, dapat mengandung 0,01% b/v benzalkonium klorida.

Tetes mata memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tetes mata dan persyaratan berikut:

Mengandung pilokarpin hidroklorida tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Pada sediaan setara 10 mg pilokarpin hidroklorida, tambah 0,1 ml asam sulfat 1 M, 1 ml hidrogen peroksida (20 vol), 1 ml toluen dan 0,05 ml natrium kromat, aduk, biarkan terpisah. Lapisan toluen berwarna violet-kebiruan, lapisan air tetap berwarna kuning.

**Asam pilokarpin.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Sediaan pilokarpin hidroklorida 0,08% b/v dalam air.

**Larutan (2).** Encerkan 2 volume larutan (1) dengan air sampai 25 volume.

**Larutan (3).** Larutkan 8,0 mg standar pilokarpin nitrat dalam 10 ml natrium hidroklorida 0,0025 M, panaskan dalam air mendidih selama 30 menit dan dinginkan.

**Kolom.** Hypersil ODS 5 µm, ukuran 15 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 55 volume metanol, 60 volume asetonitril dan 885 volume tetrabutylamonium dihidrogen ortofosfat 0,002 M. Atur pH 7,75 dengan amonia 6 M.

**Laju alir.** 1,2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 220 nm.

**Waktu uji.** 2 kali waktu tambat puncak utama.

Uji tidak absah, kecuali jika kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) sesuai dengan standar pilokarpin nitrat.

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) area puncak asam pilokarpin tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (8%)

### Penetapan kadar

Untuk tetes mata yang mengandung kurang dari 1% pilokarpin hidroklorida, gunakan metode A dan benzalkonium klorida yang dipergunakan sebagai pengawet.

Untuk tetes mata lain gunakan metode B.

- A. Pada 2 ml sediaan, tambah 5 ml campuran dapar fosfat pH 10 (Pada 100 ml dinatrium hidrogen ortofosfat 0,2 M, tambah 6,0 ml trinatrium ortofosfat 0,25 M), 5 ml kloroform dan 0,1 ml biru bromofenol. Titrasi secara perlahan-lahan dengan natrium tetrafenilborat 0,01 M, aduk setiap penambahan titran, kloroform tidak berwarna. Gunakan 2 ml sediaan, lakukan dengan prosedur B mulai dengan ".....tambah 5 ml dapar asetat pH 3,7 (larutkan 10 g natrium setat anhidrat dalam 300 ml air, atur pH 3,7 dengan asam asetat glasial dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml. Jika diperlukan, atur ulang pH 3,7 dengan asam asetat glasial atau natrium asetat anhidrat, segera sebelum digunakan).....".

Perbedaan antara titran pada pH 3,7 dan 10 adalah jumlah natrium tetrafenilborat yang dipergunakan:

- B. Encerkan sediaan dengan air, sampai konsentrasi pilokarpin hidroklorida 1% b/v. Pada 2 ml, tambah 5 ml dapar asetat pH 3,7 dan 15 ml natrium tetrafenilborat 0,01 M, aduk dan biarkan selama 10 menit. Saring dan bilas wadah dengan 5 ml air. Campur hasil saringan dan air bilasan, titrasi dengan setilpiridinium klorida 0,005 M menggunakan 0,5 ml biru bromofenol. Lakukan titrasi blanko. Perbedaan titran yang dipergunakan adalah jumlah natrium tetrafenilborat yang dipergunakan.

Setiap ml natrium tetrafenilborat 0,01 M setara dengan 2,447 mg C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.HCl.

### Penyimpanan

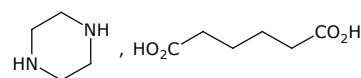
Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Piperazin Adipat

*Piperazine Adipate*



C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>      BM: 232,3      [142-88-1]

### Definisi

Piperazin adipat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari piperazin heksanedioat, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Larut dalam air, praktis tidak larut dalam alkohol.

**Suhu lebur.** 250°C, dengan dekomposisi.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A.

Identifikasi kedua: B, C.

- Spektrum serapan inframerah sama dengan spektrum serapan standar piperazin adipat.
- Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji senyawa sejenis setelah penyemprotan dengan larutan ninhidrin. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- Pada 10 ml larutan S, tambah 5 ml asam hidroklorida dan kocok tiga kali, masing-masing dengan 10 ml eter. Uapkan fase eter sampai mendekati kering. Bilas residu dengan 5 ml air dan keringkan pada suhu 105°C. Suhu lebur 150°–154°C.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air sampai batas volume 50 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar B<sub>s</sub>.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan 1,0 g zat uji dalam 6 ml amoniak pekat dan encerkan dengan etanol sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan campuran 2 volume etanol dan 3 volume amoniak pekat sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g standar piperazin adipat dalam campuran 2 volume etanol dan 3 volume amoniak pekat sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 25 mg etilendiamin dalam campuran 2 volume etanol dan 3 volume amoniak pekat sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 25 mg trietilendiamin dalam campuran 2 volume etanol dan 3 volume amoniak pekat sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan 12,5 mg trietilendiamin dalam 5,0 ml larutan uji (a) dan encerkan dalam campuran 2 volume etanol dan 3 volume amoniak pekat sampai batas volume 50 ml.

**Fase gerak.** Campuran 20 volume amoniak pekat dan 80 volume aseton.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan semprot dengan ninhidrin (3 g/l, dalam campuran 3 volume asam asetat anhidrat dan 100 volume butanol) dan ninhidrin (1,5 g/l) dalam etanol. Keringkan di udara pada suhu 105°C selama 10 menit. Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), selain bercak utama, tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan bercak yang

diperoleh dengan larutan standar (b) (0,25%). Semprot lempeng dengan iodium 0,05 M dan diamkan selama 10 menit. Bercak lain trietilendiamin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a) tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,25%). Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (d) menunjukkan dua bercak yang terpisah. Abaikan bercak lain pada garis awal.

**Logam berat.** 12 ml larutan S memenuhi uji batas untuk logam berat (20 ppm). Gunakan standar timbal (1 ppm Pb).

**Air.** Tidak lebih dari 0,5%.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

### Penetapan kadar

Larutkan 0,1 g dalam 10 ml asam asetat anhidrat dengan pemanasan dan encerkan dengan asam asetat anhidrat sampai volume 70 ml. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M, gunakan 0,25 ml larutan naftolbenzen sebagai indikator sampai warna hijau.

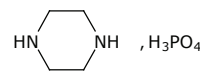
Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 11,61 mg C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.

### Khasiat

Obat cacung.

## Piperazin Fosfat

*Piperazine Phosphate*



C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O      BM: 202,1      [18534-18-4]

### Definisi

Piperazin fosfat mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 100,5% dari C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>.H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Agak sukar larut dalam air, praktis tidak larut dalam etanol (96%).

### Identifikasi

- Larutkan 0,1 g dalam 5 ml air, tambah 0,5 g natrium hidrogen karbonat, 0,5 ml kalium heksasianoferrat (III) 5% b/v dan 0,1 ml air raksa. Aduk dengan kuat selama 1 menit dan diamkan selama 20 menit. Terbentuk warna kemerahan.
- Larutkan 0,2 g dalam 5 ml asam hidroklorida 2 M, tambah 1 ml natrium nitrit 50% b/v sambil diaduk dan dinginkan dalam es selama 15 menit, aduk jika terbentuk kristal. Bilas dengan 10 ml air es dan keringkan pada suhu 105°C. Suhu lebur kristal 159°C.
- Memberikan reaksi fosfat.



**Keasaman.** Larutan 1% b/v. pH 6,0—6,5.

**Logam berat.** Larutkan 2,0 g dalam 20 ml asam asetat 2M. Pada 12 ml larutan memenuhi uji batas logam berat. Gunakan standar timbal (2 ppm Pb).

**Air.** 8,0%—9,0% b/b. Gunakan 0,25 g.

#### Penetapan kadar

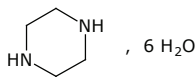
Larutkan 0,2 g dalam campuran 3,5 ml asam sulfat 0,5M dan 10 ml air. Tambah 100 ml asam pikrat, panaskan di atas penangas air selama 15 menit dan diamkan selama 1 jam. Saring melalui penyaring gelas (ISO 4793, ukuran 4) dan bilas residu dengan 10 ml campuran asam pikrat jenuh dan air dengan volume yang sama sampai bebas sulfat. Bilas residu lima kali, masing-masing dengan 10 ml etanol absolut dan keringkan pada suhu 105°C sampai bobot tetap. Setiap g residu setara dengan 0,3382 g dari  $C_4H_{10}N_2 \cdot H_3PO_4$ .

#### Khasiat

Obat cacing.

## Piperazin Hidrat

*Piperazine Hydrate*



$C_4H_{10}N_2 \cdot 6H_2O$

BM: 194,2

[142-63-2]

#### Definisi

Piperazin hidrat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari piperazin heksahidrat.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Kristal tidak berwarna dan delikuesen.

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

**Suhu lebur.** 43°C.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A.

Identifikasi kedua: B, C.

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar piperazin hidrat.
- Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji senyawa sejenis setelah penyemprotan dengan larutan ninhidrin. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- Larutkan 0,5 g dalam 5 ml larutan natrium hidroksida encer. Tambah 0,2 ml benzoil klorida dan aduk. Tambah benzoil klorida dalam 0,2 ml sampai terbentuk endapan. Saring dan bilas endapan dengan 10 ml air. Larutkan endapan dalam 2 ml alkohol dan tambah 5 ml air. Diamkan selama 4 jam, saring, bilas kristal dengan air dan keringkan pada suhu 105°C. Suhu lebur kristal 191°—196°C.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 20 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar B<sub>8</sub>.

**pH.** Larutan S 10,5—12,0.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan 1,0 g zat uji dalam 6 ml amoniak pekat dan encerkan dengan etanol sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan campuran 2 volume etanol dan 3 volume amoniak pekat sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g standar piperazin hidrat dalam campuran 2 volume etanol dan 3 volume amoniak pekat sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 25 mg etilendiamin dalam campuran 2 volume etanol dan 3 volume amoniak pekat sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 25 mg trietilendiamin dalam campuran 2 volume etanol dan 3 volume amoniak pekat sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan 12,5 mg trietilendiamin dalam 5,0 ml larutan uji (a) dan encerkan dalam campuran 2 volume etanol dan 3 volume amoniak pekat sampai batas volume 50 ml.

**Fase gerak.** Campuran 20 volume amoniak pekat dan 80 volume aseton.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan semprot dengan ninhidrin (3 g/l, dalam campuran 3 volume asam asetat anhidrat dan 100 volume butanol) dan ninhidrin (1,5 g/l) dalam etanol. Keringkan di udara pada suhu 105°C selama 10 menit. Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), selain bercak utama, tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,25%). Semprot lempeng dengan iodium 0,05 M dan diamkan selama 10 menit. Bercak lain trietilendiamin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a) tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,25%). Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (d) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

**Logam berat.** Pada 12 ml larutan S memenuhi uji batas untuk logam berat (20 ppm). Gunakan standar timbal (1 ppm Pb).

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 80,0 mg dalam 10 ml asam asetat anhidrat dengan pemanasan dan encerkan dengan asam asetat anhidrat sampai volume 70 ml. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M, gunakan 0,25 ml larutan naftolbenzen sebagai indikator sampai terbentuk warna hijau.

Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 9,705 mg  $C_4H_{10}N_2 \cdot 6H_2O$ .

### Penyimpanan

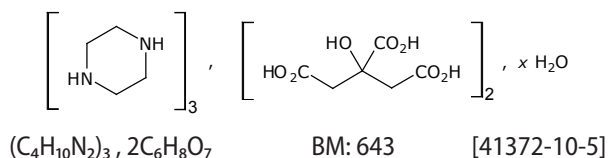
Kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

### Khasiat

Obat cacing.

## Piperazin Sitrat

*Piperazine Citrate*



### Definisi

Piperazin sitrat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari tripiperazin bis(2-hidroksi-propan-1,2,3-trikarboksilat), dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, praktis tidak larut dalam alkohol.

**Suhu lebur.** 190°C.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A.

Identifikasi kedua: B, C.

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar piperazin adipat.
- Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji senyawa sejenis setelah penyemprotan dengan larutan ninhidrin. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam air sampai volume 5 ml. Larutan memberikan reaksi sitrat.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 1,25 g dalam air sampai batas volume 25 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar B<sub>8</sub>.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan 1,0 g zat uji dalam 6 ml amoniak pekat dan encerkan dengan etanol sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan campuran 2 volume etanol dan 3 volume amoniak pekat sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g standar piperazin sitrat dalam campuran 2 volume etanol dan 3 volume amoniak pekat sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 25 mg etilendiamin dalam campuran 2 volume etanol dan 3 volume amoniak pekat sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 25 mg trietilendiamin dalam campuran 2 volume etanol dan 3 volume amoniak pekat sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan 12,5 mg trietilendiamin dalam 5,0 ml larutan uji (a) dan encerkan dalam campuran 2 volume etanol dan 3 volume amoniak pekat sampai batas volume 50 ml.

**Fase gerak.** Campuran 20 volume amoniak pekat dan 80 volume aseton.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan semprot dengan ninhidrin (3 g/l, dalam campuran 3 volume asam asetat anhidrat dan 100 volume butanol) dan ninhidrin (1,5 g/l) dalam etanol. Keringkan di udara pada suhu 105°C selama 10 menit. Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), selain bercak utama, tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,25%). Semprot lempeng dengan iodum 0,05 M dan diamkan selama 10 menit. Bercak lain trietilendiamin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a) tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,25%). Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (d) menunjukkan dua bercak yang terpisah. Abaikan bercak lain pada garis awal.

**Logam berat.** Pada 12 ml larutan S memenuhi uji batas untuk logam berat (20 ppm). Gunakan standar timbal (1 ppm Pb).

**Air.** 10,0%—14,0%. Gunakan 0,3 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

### Penetapan kadar

Larutkan 0,1 g dalam 10 ml asam asetat anhidrat dengan pemanasan dan encerkan dengan asam asetat anhidrat sampai volume 70 ml. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M, gunakan 0,25 ml larutan naftolbenzen sebagai indikator sampai terbentuk warna hijau.

Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 10,71 mg  $C_{24}H_{46}N_6O_{14}$ .

### Khasiat

Obat cacing.

## Piperazin Kapsul

### Definisi

Piperazin kapsul mengandung piperazin sitrat dalam pembawa yang sesuai.

Kapsul memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan kapsul dan persyaratan berikut:

Mengandung piperazin sitrat anhidrat tidak kurang dari

90,0% dan tidak lebih dari 110,0% ( $C_4H_{10}N_2$ )<sub>3</sub>.2C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub> dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Sediaan setara 1 g piperazin sitrat, tambah 20 ml air, aduk dan saring. Hasil saringan memenuhi uji berikut:

- A. Encerkan 1 ml hasil saringan dengan air sampai volume 5 ml, tambah 0,5 g natrium hidrogen karbonat, 0,5 ml larutan segar kalium heksasianiferat (III) 5% b/v dan 0,1 ml raksa, aduk selama 1 menit dan biarkan selama 20 menit, perlahan-lahan terbentuk warna kemerahan.

Campur 4 ml dengan 1 ml asam hidroklorida dan 0,5 g natrium nitrit. Panaskan sampai mendidih, dinginkan di dalam es selama 15 menit, ambil kristal yang menempel pada dinding tabung dengan batang kaca dan saring. Bilas dengan 10 ml air es, panaskan pada suhu 105°C. Suhu lebur 159°C.

- B. Menunjukkan rekasi sitrat

### Penetapan kadar

Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar piperazin sitrat, menggunakan larutan uji: Sediaan setara dengan 0,2 g piperazin sitrat, tambah 10 ml air, aduk dan saring, bilas kertas saring 3 kali, masing-masing dengan 5 ml air. Pada campuran hasil saringan dan air bilasan, tambah 3,5 ml asam sulfat 0,5 M dan 100 ml asam pikrat, panaskan di atas penangas air selama 15 menit, biarkan selama 1 jam dan saring. Bilas residu dengan larutan piperazin dipikrat (Larutkan 0,2 g piperazin hidrat dalam 3,5 ml asam sulfat 0,5 M dan 10 ml air, tambah 100 ml asam pikrat, panaskan di atas penangas air selama 15 menit, dinginkan dan saring. Bilas endapan dengan air sampai bebas sulfat. Aduk endapan dengan air sampai jenuh dan saring) sampai bebas dari sulfat dan keringkan pada suhu 105°C sampai bobot tetap. Setiap g residu setara dengan 0,3935 g ( $C_4H_{10}N_2$ )<sub>3</sub>.2C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>.

### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Piperazin Larutan Oral

### Definisi

Piperazin larutan oral mengandung piperazin sitrat dalam pembawa dan aroma yang sesuai.

Larutan oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan larutan oral dan persyaratan berikut:

Mengandung piperazin sitrat tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

- A. Pada 1 ml, tambah 5 ml asam hidroklorida 2 M

dan aduk, tambah 1 ml larutan segar natrium nitrit 50% b/v, dinginkan dalam es selama 15 menit. Bilas kristal dengan air dan keringkan pada suhu 105°C. Suhu lebur 159°C.

- B. Panaskan 10 ml dengan karkol aktif dan saring. Didihkan hasil saringan dengan larutan raksa (II) sulfat berlebih, saring dan didihkan hasil saringan. Tambah 0,25 ml kalium permanganat encer. Larutan tidak berwarna dan terbentuk endapan putih
- C. Asamkan sebagaimana hasil saringan yang diperoleh pada uji B dengan asam sulfat 1 M, tambah 0,25 ml kalium permanganat encer, hangatkan sampai warna berubah dan tambah air brom berlebih. Terbentuk endapan putih dengan segera atau dengan pendinginan.

**Berat jenis.** 1,2—1,3 g/ml.

### Penetapan kadar

Pada 1,5 g, tambah 3,5 ml asam sulfat 1 M dan 10 ml air. Tambah 100 ml asam pikrat (tambah 0,25 ml natrium hidroksida 10 M pada 100 ml asam pikrat jenuh dalam air). Panaskan di atas penangas air selama 15 menit, biarkan selama 1 jam dan saring. Bilas residu 4 kali, masing-masing dengan 10 ml campuran asam pikrat jenuh dan air dengan volume yang sama sampai air bilasan bebas dari sulfat. Bilas residu, 5 kali masing-masing dengan 10 ml etanol absolut dan keringkan pada suhu 105°C sampai bobot tetap. Setiap g residu setara dengan 0,3935 g ( $C_4H_{10}N_2$ )<sub>3</sub>.2C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>.

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Piperazin Tablet

### Definisi

Piperazin tablet mengandung piperazin sitrat dalam pembawa yang sesuai.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut.

Mengandung piperazin sitrat anhidrat tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%  $C_4H_{10}N_2$ )<sub>3</sub>.2C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub> dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Sediaan setara 1 g piperazin sitrat, tambah 20 ml air, aduk dan saring. Hasil saringan memenuhi uji berikut:

- A. Encerkan 1 ml hasil saringan dengan air sampai volume 5 ml, tambah 0,5 g natrium hidrogen karbonat, 0,5 ml larutan segar kalium heksasianiferat (III) 5% b/v dan 0,1 ml raksa, aduk selama 1 menit dan biarkan selama 20 menit, perlahan-lahan terbentuk warna kemerahan.

Campur 4 ml dengan 1 ml asam hidroklorida dan 0,5 g natrium nitrit. Panaskan sampai mendidih,

dinginkan di dalam es selama 15 menit, ambil kristal yang menempel pada dinding tabung dengan batang kaca dan saring. Bilas dengan 10 ml air es, panaskan pada suhu 105°C. Suhu lebur 159°C.

B. Menunjukkan rekasi sitrat

#### Penetapan kadar

Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar piperazin sitrat, menggunakan larutan uji: Sediaan setara dengan 0,2 g piperazin sitrat, tambah 10 ml air, aduk dan saring, bilas kertas saring 3 kali, masing-masing dengan 5 ml air. Pada campuran hasil saringan dan air bilasan, tambah 3,5 ml asam sulfat 0,5 M dan 100 ml asam pikrat, panaskan di atas penangas air selama 15 menit, biarkan selama 1 jam dan saring. Bilas residu dengan larutan piperazin dipikrat (larutkan 0,2 g piperazin hidrat dalam 3,5 ml asam sulfat 0,5 M dan 10 ml air, tambah 100 ml asam pikrat, panaskan di atas penangas air selama 15 menit, dinginkan dan saring. Bilas endapan dengan air sampai bebas sulfat. Aduk endapan dengan air sampai jenuh dan saring) sampai bebas dari sulfat dan keringkan pada suhu 105°C sampai bobot tetap. Setiap g residu setara dengan 0,3935 g (C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>)<sub>3</sub>.2C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>.

#### Penyimpanan

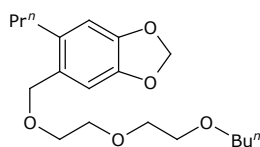
Dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

### Piperonil Butoksida

*Piperonyl Butoxide*



C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub>

BM: 338,4

[51-03-6]

#### Definisi

Piperonil butoksida adalah 5-[2-(2-butoksietoksi)etoksimetil]-6-propil-1,3-benzo dioksol.

Mengandung tidak kurang dari 85,0% dari C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub>.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Cairan kuning atau kecoklatan.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air; bercampur dalam kloroform, etanol (96%) dan petroleum eter.

#### Identifikasi

- Serapan cahaya, pada panjang gelombang 220—350 nm dari larutan 0,008% b/v dalam etanol absolut. Serapan maksimum pada panjang gelombang 238 nm dan 290 nm adalah 1,2 dan 1,0.
- Larutkan 0,1 mg dalam 0,1 ml asetonitril, tambah 10 mg asam galat dan aduk. Tambah 3 ml asam sulfat

untuk membentuk lapisan bagian bawah, biarkan selama 1 menit dan aduk. Terbentuk warna hijau.

- Pada 0,1 ml larutan 0,05% b/v dalam etanol (96%), tambah 5 ml asam tanat, kocok selama 1 menit dan panaskan selama 5 menit. Terbentuk warna biru.

**Indeks-bias.** 1,497—1,512.

**Berat jenis.** 1,050—1,065 g/ml.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,2%.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan (1).** Standar piperonil butoksida 0,25% b/v dalam kloroform.

**Larutan (2).** Tetrafeniletilen (standar internal) 0,2% b/v dalam kloroform.

**Larutan (3).** Zat uji 0,25% b/v dan standar internal 0,2% b/v dalam kloroform.

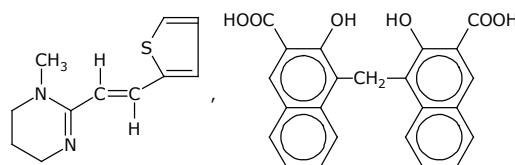
**Kolom.** Gelas OV 17 mesh 100-120, ukuran 1,0 m × 4 mm atau yang sesuai, suhu 235°C.

#### Khasiat

Askarisida.

### Pirantel Pamoat

*Pyrantel Pamoate*



C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>S, C<sub>23</sub>H<sub>16</sub>SO<sub>6</sub>

BM: 594,68

[22204-24-6]

#### Definisi

Mengandung pirantel pamoat tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, alkohol dan metanol. Larut dalam dimetilsulfoksid.

#### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar pirantel pamoat.
- Serapan ultraviolet akan memberikan maksimum pada panjang gelombang yang sama dengan standar pirantel pamoat.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Larutkan sediaan setara dengan 100 mg pirantel pamoat dalam 10 ml dioksan dan 10 ml amonium hidroksida (1 dalam 30). Encerkan dengan

asam perklorat (1 dalam 20) sampai batas volume 100 ml dan saring.

Pada 5 ml hasil saringan, encerkan dengan asam perklorat sampai batas volume 50 ml. Pada 25 ml, ekstraksi 2 kali, masing-masing dengan 100 ml dan 50 ml kloroform. Bilas ekstrak kloroform 2 kali, masing-masing dengan 40 ml asam hidroklorida (1 dalam 500). Encerkan fase air dengan asam hidroklorida sampai batas volume 100 ml.

Ukur pada panjang gelombang 311 nm.

#### Penyimpanan

Simpan ditempat kering dan dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Obat cacung.

### Pirantel Serbuk Oral

#### Definisi

Pirantel serbuk oral mengandung pirantel pamoat dalam pembawa yang sesuai.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut.

Mengandung pirantel pamoat tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

Serapan ultraviolet akan memberikan maksimum pada panjang gelombang yang sama dengan standar pirantel pamoat dari larutan 1% b/v.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Larutkan sediaan setara dengan 100 mg pirantel pamoat dalam 10 ml dioksan dan 10 ml amonium hidroksida (1 dalam 30). Encerkan dengan asam perklorat (1 dalam 20) sampai batas volume 100 ml dan saring.

Pada 5 ml hasil saringan, encerkan dengan asam perklorat sampai batas volume 50 ml. Pada 25 ml, ekstraksi 2 kali, masing-masing dengan 100 ml dan 50 ml kloroform. Bilas ekstrak kloroform 2 kali, masing-masing dengan 40 ml asam hidroklorida (1 dalam 500). Encerkan fase air dengan asam hidroklorida sampai batas volume 100 ml.

Ukur pada panjang gelombang 311 nm.

#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Bunga Piretrum

*Pyrethrum Flower*

#### Definisi

Bunga piretrum adalah kepala putik bunga kering dari *Chrysanthemum cinerariaefolium* Vis.

Mengandung tidak kurang dari 1,0% piretrin yang tidak kurang dari setengahnya mengandung piretrin I.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Berbau khas yang tidak menyengat.

#### Makroskopis

Bagian pangkal yang mengelilingi bunga (*kapitula*) sering tidak tampak atau terkompresi menjadi padat; secara individual bagian kapitula lebih atau kurang datar, diameter berkisar 6 – 12 mm, dan pada umumnya dengan tangkai berdempetan potongan pendek; ujung dari pedisel (*receptacle*) selalu datar, dengan diameter 5–10 mm, tanpa penutup kelopak, dikelilingi oleh bentukan dasar kelopak bunga (*involucre*) warna kuning kecoklatan, jumlah bagian individu bunga (*florets*) 15–23, cakram dari bagian individu bunga (*florets*) 200–300; mahkota bunga (*corolla*) yang menjadi bagian individu bunga kecil (*ligulate florets*) berwarna kecoklatan dan menyusut (*shrivelled*), membujur dengan panjang 16 mm dengan dikelilingi 3 gigi yang menyentuh langit-langit mulut (*apical*), gigi pusat lebih kecil dibandingkan dengan 2 yang lateral; dibagian tengah mahkota bunga terdapat 17 saluran (*vena*); mahkota dari cakram tabung bagian individu bunga (*disc florets tubular*), kuning, dengan lima bagian (*lobus*) pendek, dan ditutup dengan lima daun bunga (*apipetalous*), setiap cakram individu bunga dibawahnya (*floret interior*) membujur 5 tangkai dekat benangsari (*ovary*) sekitar panjang 5 mm dengan cabang dan dua buah stigma (*bifid stigma*) dan diikat oleh tabung kelopak bunga yang jernih (*membranous tubular calyx*) panjang 1 mm; benangsari dan bagian bawah mahkota bunga ditutup dengan sejumlah minyak glandula yang mengkilat.

#### Mikroskopis

Sel besar yang menyusun sklerensim dengan longgar dari ujung pedisel (*receptacle*) dengan dinding tebal dan sedikit berlubang; mahkota dari bagian individu bunga yang terlihat pecah-pecah (*fragments*), seluruh dari jari-jari bagian individu bunga menunjukkan tonjolan yang mengkerut pada epidermis bagian dalam dan dinding sel berliku-liku dengan kutikula bergaris pada bagian luar epidermis, tabung bagian individu bunga (*tubular florets*) terdiri dari sel dengan dinding sedikit tebal dengan tonjolan yang hanya tampak di atas lobus, kelenjar trikomes berbentuk bulat sampai lonjong pendek, tangkai *biseriate* dan kepala *biseriate* dengan 2 atau 4 sel; menutup 2 lapis. Bentukan T dengan ketebalan dinding sedang; dengan sejumlah tepung sari, lonjong, diameter antara 34–40 µm dengan tiga lubang dan sebuah tulang; kelompok sklerensim empat persegi panjang kecil, beberapa mengandung prisma kalsium oksalat dari kelopak bunga (*involucre*), benang

sari dan bagian dasar kelopak bunga; sel parenchym dari kelopak bunga dan benang sari mengandung bentukan intan kristal kalsium oksalat berbentuk tabung (*tubular*), biasanya sel mengandung kluster kristal pada dasar mahkota dari cakram individu bunga secara proporsional.

**Abu tidak larut asam.** Tidak lebih dari 1,0%.

#### Penetapan kadar

Ekstrak 12,5 g serbuk hasil ayakan nomor 1000 dengan petroleum benzin bebas aromatik (titik didih 40°–60°C) selama 7 jam. Uapkan ekstrak sampai volume 40 ml dan biarkan semalam pada suhu 0°–5°C. Tambah 20 ml kalium hidroksida-etanol 0,5M dan dididihkan dalam refluks kondensor selama 45 menit. Pindahkan larutan ke dalam gelas piala dan labu dibilas dengan air panas secukupnya. Tambah air bilasan sampai batas volume 200 ml. Dididihkan sampai volume 150 ml, dinginkan dengan cepat dan pindahkan larutan ke dalam labu bersumbat, bilas tiga kali masing-masing dengan 20 ml air. Kemudian pindahkan residu ke dalam labu. Tambah 1 g tanah diatomea (Filtercel yang sesuai) dan 10 ml larutan barium klorida, aduk dan tambah air sampai batas volume 250 ml. Sumbat labu, kocok dengan kuat sampai larutan terpisah jelas dan saring menggunakan kertas saring Whatman No. 1 atau yang sesuai.

**Untuk piretrin I.** Pindahkan 200 ml hasil saringan ke dalam labu pisah, bilas pipet dua kali masing-masing dengan 5 ml air dan tambah 0,05 ml larutan fenolftalein. Netralkan larutan dengan penambahan asam hidroklorida kemudian tambah 1 ml asam hidroklorida. Tambah 5 ml larutan natrium klorida jenuh dan 50 ml petroleum benzin bebas aromatik (titik didih 40°–60°C), kocok dengan kuat selama 1 menit, biarkan terpisah, keluarkan dan tinggalkan lapisan bawah.

Saring ekstrak petroleum benzin melalui katun jerap (kain flanel) dan masukan ke dalam labu pisah kedua yang berisi 10 ml air. Kembalikan fase air ke dalam labu kocok pertama dan ulangi ekstraksi dengan 50 ml dan 25 ml petroleum benzin bebas aromatik (titik didih 40°–60°C). Simpan fase air untuk penetapan piretrin II. Saring ekstrak dengan katun jerap (kain flanel) dan masukan ke dalam labu pisah ke dua.

Kocok campuran ekstrak petroleum benzin dan air selama 30 detik, biarkan sampai terpisah. Keluarkan lapisan bawah dan tambahkan ke fase air untuk penetapan piretrin II. Bilas lapisan atas dengan 10 ml air kemudian tambah hasil bilasan dalam fase air untuk penetapan piretrin II.

Pada ekstrak petroleum benzin, tambah 5 ml natrium hidroksida 0,1M, kocok dengan kuat selama 1 menit, biarkan sampai terpisah dan keluarkan lapisan bawah yang jernih. Bilas ujung labu pisah dengan 1 ml air.

Ulangi ekstraksi dengan pengocokkan selama 30 detik menggunakan 2,5 ml, 1,5 ml natrium hidroksida 0,1 M dan tambah ekstrak ke dalam ekstrak basa.

Tambah 10 ml larutan raksa (II) sulfat, sumbat dan aduk biarkan dalam ruang gelap pada suhu 25°C ±

0,5°C selama 60 menit setelah penambahan raksa (II) sulfat. Tambah 20 ml aseton dan 3 ml larutan natrium klorida jenuh, panaskan sampai mendidih dan biarkan endapan terpisah, ambil supernatan dan saring melalui kertas saring Whatman No. 1 atau yang sesuai. Biarkan endapan di dalam labu.

Bilas endapan dengan 10 ml aseton, dididihkan kembali dan biarkan terpisah. Kemudian saring kembali menggunakan kertas saring yang sama. Ulangi proses tersebut 3 kali menggunakan 10 ml kloroform panas. Pindahkan kertas saring ke dalam labu dan tambah 50 ml campuran 3 bagian volume asam klorida dan 2 bagian volume air dan 1 ml pereaksi iodum monoklorida kuat dan 6 ml kloroform. Titrasi dengan kalium iodat 0,01 M sampai mendekati titik akhir. Lanjutkan titrasi dengan pengocokkan 30 detik setiap penambahan 1 tetes sampai kloroform tidak berwarna. Lakukan titrasi blanko. Perbedaan antara volume titran adalah volume titran yang diperlukan.

Setiap ml kalium iodat 0,01 M setara dengan 5,7 mg piretrin I.

**Untuk piretrin II.** Pindahkan fase air yang didapat pada penetapan piretrin I, ke gelas piala, sumbat dengan gelas arloji dan uapkan sampai batas volume 50 ml dalam waktu antara 35–45 menit. Dinginkan, bilas bagian bawah gelas arloji dengan tidak lebih dari 5 ml air dan tambah air bilasan ke dalam gelas piala tersebut. Saring dengan menggunakan katun jerap ke dalam labu pisah, bilas secara simultan masing-masing dengan volume 10; 7,5; 7,5; 5 dan 5 ml air. Pada fase cair, tambah natrium klorida sampai jenuh, tambah 10 ml asam hidroklorida dan 50 ml eter, kocok selama 1 menit, biarkan sampai terpisah, dan keluarkan lapisan bawah. Ulangi proses ekstraksi secara simultan masing-masing dengan volume 50, 25 dan 25 ml eter.

Bilas ekstrak eter tiga kali masing-masing dengan 10 ml larutan natrium klorida jenuh dan pindahkan fase eter ke labu dengan bantuan 10 ml eter. Uapkan fase eter sampai mendekati kering dan dengan aliran udara. Keringkan residu pada suhu 100°C selama 10 menit, buang residu uap asam dengan aliran udara.

Tambah 2 ml etanol (96%) yang sebelumnya telah dinetralkan terhadap larutan fenolftalein dan tambah 0,05 ml larutan fenolftalein, aduk sampai residu larut, tambah 20 ml air bebas karbon dioksida dan titrasi segera dengan menggunakan natrium hidroksida 0,02 M sampai terbentuk warna merah muda kecoklatan tetap selama 30 detik. Ulangi proses tersebut menggunakan larutan untuk piretrin I. Perbedaan antara volume titran adalah volume natrium hidroksida 0,02 M yang diperlukan.

Setiap ml natrium hidroksida 0,02 M setara dengan 3,74 mg piretrin II.

#### Khasiat

Insektisida.

## Piretrum Ekstrak

### Definisi

Piretrum ekstrak disiapkan dari bunga piretrum.

### Cara pembuatan

Ekstrak bunga piretrum dengan pelarut hidrokarbon yang sesuai, uapkan pelarut dan pekatkan pada suhu rendah. Hilangkan warnanya ekstrak dengan prosedur yang sesuai. Jika perlu tambah paraffin cair atau kerosen yang tidak berwarna pada ekstrak sampai perbandingan yang sesuai.

Ekstrak memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk ekstrak dan persyaratan berikut.

Mengandung piretrin tidak kurang dari 24,5% dan tidak lebih dari 25,5% b/b, yang tidak kurang setengahnya adalah piretrin I.

### Karakteristik

**Pemerian.** Cairan kental berwarna hijau tua atau coklat, cairan kental pucat tidak berwarna.

### Penetapan kadar

Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera dalam piretrum serbuk halus menggunakan 0,5 g ekstrak dan mulai di kata ".....*Tambah 20 ml kalium hidroksida-etanol 0,5 M.....*".

Jika piretrum ekstrak berwarna, lakukan prosedur berikut. Pindahkan 0,5 g ekstrak ke labu, tambah 50 ml petroleum benzin bebas aromatik (titik didih, 40°—60°C), aduk, tambah 1 g dari tanah diatomae (filtercel), aduk, sumbat botol dan biarkan selama 16 jam pada suhu 20°—22°C. Campur isi labu secara menyeluruh, saring melalui gelas saring dengan ukuran pori 4, dan bilas residu lima kali, masing-masing 10 ml petroleum benzin bebas aromatik (titik didih, 40°—60°C). Hilangkan pelarut dari hasil saring dan bilas serta uapkan sampai volume 1-2 ml. Lakukan penetapan seperti yang tertera dalam penetapan piretrum serbuk halus mulai di kata ".....*Tambah 20 ml kalium hidroksida - etanol 0,5 M.....*".

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Piretrum Serbuk Halus

### Definisi

Piretrum serbuk halus mengandung 1,6% b/b dari piretrum ekstrak dalam pembawa yang sesuai.

### Formulasi dan cara pembuatan

Ekstrak piretrum	: 16 g
Serbuk halus diatomit	: 300 g
Serbuk halus talk murni	: 684 g
Kloroform	: secukupnya

Larutkan ekstrak piretrum dalam kloroform dan semprot larutan secara bergantian pada diatomit dan talk murni sambil lakukan pengadukan.

Serbuk halus memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk topikal dan dengan persyaratan berikut. Mengandung piretrin tidak kurang dari 0,36% dan tidak lebih dari 0,44% b/b, yang tidak kurang dari setengahnya adalah piretrin I.

Kehalusan memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk serbuk topikal menggunakan ayakan dengan mesh nominal 180 µm.

### Penetapan kadar

Ekstraksi 30 g sediaan dengan petroleum benzin (titik didih 40°—60°C) secukupnya selama 8 jam menggunakan sokhlet atau yang sesuai. Lanjutkan ekstraksi dengan pelarut yang baru selama 4 jam. Campur ekstrak dan uapkan di atas penangas air sampai mendekati kering. Tambah 20 ml kalium hidroksida-etanol 0,5 M dan didihkan di dalam refluks kondensor selama 45 menit.

Tambah air bilasan ke dalam gelas piala sampai batas volume 200 ml. Didihkan sampai volume 150 ml, dinginkan dengan cepat dan pindahkan larutan ke dalam labu bersumbat, bilas gelas piala tiga kali masing-masing dengan 20 ml air kemudian pindahkan residu yang lengket ke dalam labu. Tambah 1 g tanah diatomae (filtercel yang sesuai) dan 10 ml larutan barium klorida, aduk dan tambah air sampai batas volume volume 250 ml. Sumbat labu, kocok dengan kuat sampai larutan terpisah jelas dan saring menggunakan kertas saring Whatman No. 1 atau yang sesuai.

**Piretrin I.** Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar piretrin I pada bunga piretrum menggunakan hasil saringan sebagaimana disebutkan di atas.

**Piretrin II.** Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar piretrin II pada bunga piretrum menggunakan larutan sebagaimana disebutkan di atas.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Piretrum Spray

### Definisi

Piretrum *spray* mengandung 0,38% b/b ekstrak piretrum dalam pembawa yang sesuai. Kecuali dinyatakan lain, komposisi mengandung 3,8 g ekstrak piretrum; 7,6 g piperonil butoksida; 988,6 g kerosen yang tidak berbau.

**Spray.** Memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan topikal dan persyaratan berikut.

Mengandung piperonil butoksida, C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> tidak kurang dari 0,57% dan tidak lebih dari 0,72% b/b.

Mengandung piretrin tidak kurang dari 0,08% dan tidak lebih dari 0,11% b/b, yang tidak kurang dari setengahnya adalah piretrin I.

**Identifikasi**

Pada 0,1 ml sediaan, tambah 5 ml asam tanat, kocok dengan kuat selama 1 menit dan panaskan di atas penangas air selama 5 menit. Terbentuk warna biru.

**Penetapan kadar**

**Piperonil butoksida.** Lakukan penetapan seperti pada piperonil butoksida, menggunakan:

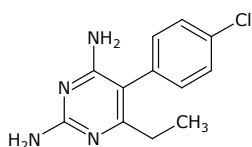
**Larutan (2).** Campur 7 g sediaan dalam kloroform sampai batas volume volume 20 ml.

**Larutan (3).** Campur 7 g sediaan dan 40 mg tetrafeniletilen (standar internal) dan encerkan dengan kloroform sampai volume 20 ml.

**Piretrin I.** Lakukan seperti dalam penetapan kadar piretrin I pada bunga piretrum menggunakan hasil saringan dari 120 g sediaan.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Pirimetamin***Pyrimethamine* $C_{12}H_{13}ClN_4$ 

BM: 248,7

[58-14-0]

**Definisi**

Pirimetamin mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari 5-(4-klorofenil)-6-etilpirimidin-2,4-diamin, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal hampir putih atau tidak berwarna.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, sukar larut dalam alkohol.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: C.

Identifikasi kedua: A, B, D.

A. Suhu lebur 239°—243°C.

B. Larutkan dan encerkan 0,14 g dalam etanol sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 10,0 ml larutan dengan asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 10,0 ml larutan dengan asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 100,0 ml. Periksa pada panjang gelombang 250—300 nm, larutan menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 272 nm dan serapan minimum pada panjang gelombang 261 nm. Serapan spesifik maksimum 310—330.

C. Spektrum serapan inframerah sama dengan spektrum serapan standar pirimetamin.

D. Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji senyawa sejenis dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

**Larutan S.** Kocok 1,0 g dengan 50 ml air suling selama 2 menit dan saring.

**Kejernihan larutan.** Siapkan larutan dengan segera sebelum menggunakan. Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam campuran 1 volume metanol dan 3 volume metilen klorida sampai volume 10 ml. Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar BY<sub>6</sub>.

**Keasaman-kebasaan.** Pada 10 ml larutan, tambah 0,05 ml larutan fenolftalein. Larutan tidak berwarna. Tidak lebih dari 0,2 ml natrium hidroksida 0,01 M, terbentuk warna merah muda. Tambah 0,4 ml asam hidroklorida 0,01 M dan 0,05 ml larutan merah metil. Terbentuk warna larutan merah atau orange.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub>.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,25 g zat uji dalam campuran 1 volume metanol dan 9 volume kloroform sampai batas volume 25 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan campuran 1 volume metanol dan 9 volume kloroform sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g standar pirimetamin dalam campuran 1 volume metanol dan 9 volume kloroform sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 2,5 ml larutan uji (a) dengan campuran 1 volume metanol dan 9 volume kloroform sampai batas volume 100 ml. Encerkan 1 ml larutan dengan campuran 1 volume metanol dan 9 volume kloroform sampai volume 10 ml.

**Fase gerak.** Campuran 4 volume kloroform, 8 volume propanol, 12 volume asam asetat glasial dan 76 volume toluen.

Totolkan 20 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa pada cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), selain bercak utama, tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,25%).

**Sulfat.** Pada 15 ml larutan S memenuhi uji batas sulfat (80 ppm). Gunakan standar campuran 2,5 ml standar sulfat (10 ppm SO<sub>4</sub>) dan 12,5 ml air suling.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 0,5 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.



**Penetapan kadar**

Larutkan 0,2 g dalam 25 ml asam asetat anhidrat, panaskan perlahan-lahan, dinginkan. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M, tentukan titik akhir secara potensiometrik.

Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 24,87 mg  $C_{12}H_{13}ClN_4$ .

**Penyimpanan**

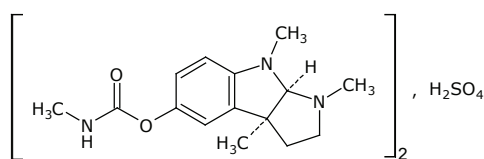
Dilindungi dari cahaya.

**Khasiat**

Anti malaria.

## Pisostigmin Sulfat

*Physostigmine Sulphate*



$(C_{15}H_{21}N_3O_2)_2, H_2SO_4$

BM: 648,8

[64-47-1]

**Definisi**

Pisostigmin sulfat mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari di[(3aS,8aR)-1,2,3,3a,8,8a-heksahidro-1,3a,8-trimetilpirrolo[2,3-b]indol-5-il metal karbamat] sulfat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih, higroskopik.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air, mudah larut dalam alkohol. Secara bertahap berubah menjadi merah jika terpapar dengan udaradan cahaya; Perubahan warna lebih cepat jika terpapar dengan kelembaban. Bentuk cair tidak stabil.

**Suhu lebur.** 145°C, dengan dekomposisi.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: A, D.

Identifikasi kedua: B, C, D.

- A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar pisostigmin sulfat.
- B. Periksa kromatogram pada uji senyawa sejenis. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan (a).
- C. Panaskan 10 mg dalam cawan porselin dengan 0,5 ml amonia encer. Terbentuk warna orange. Evaporasi sampai kering. Larutkan residu dalam alkohol dan terbentuk larutan berwarna biru. Tambah 0,1 ml asam asetat glasial ml. Terbentuk warna violet. Encerkan dengan air, terbentuk warna merah berfluoresensi yang kuat.
- D. Memberikan reaksi sulfat.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 0,5 g tanpa pemanasan dengan air bebas karbondioksida sampai volume 50,0 ml. Larutan harus segar.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak berwarna.

**pH.** Larutan S 3,5—5,5.

**Rotasi jenis.** -116° sampai -120°. Gunakan larutan S dan hitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,15 g zat uji dengan alkohol sampai 5 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan (a) dengan alkohol sampai 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 30 mg standar pisostigmin sulfat dengan alkohol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5 ml larutan uji (b) dengan alkohol sampai batas volume 100 ml.

**Fase gerak.** Campuran 2 volume amonia pekat, 23 volume 2-propanol dan 100 volume sikloheksan.

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan dengan aliran udara dingin. Lakukan pengembangan kedua dengan proses yang sama. Biarkan lempeng kering di udara dan semprot dengan larutan segar kalium iodobismutat, kemudian dengan hidrogen peroksida encer. Periksa lempeng dalam 2 menit.

Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), yang merupakan bagian dari bercak utama tidak lebih kuat intensitasnya dari bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

**Eseridin.** Pada 5 ml larutan S, tambah kristal kalium iodat, 0,05 ml asam hidroklorida encer dan 2 ml kloroform dan aduk. Setelah 1 menit, fase kloroform tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan dengan larutan standar yang diperlakukan dengan proses yang sama menggunakan 5 ml air sebagai pengganti larutan S.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan residu yang diperoleh untuk uji susut pengeringan.

**Penetapan kadar**

Larutkan 0,5 g dalam campuran 20 ml asam asetat glasial dan 40 ml asam asetat anhidrat. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M dan tentukan titik akhir secara potensiometrik pada titik infleksi pertama. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 64,88 mg  $C_{30}H_{44}N_6O_8S$ .

**Penyimpanan**

Wadah gelas tertutup rapat dan dilindungi dari cahaya.

**Khasiat**

Pengobatan glaukoma.

## Pisostigmin Tetes Mata

### Definisi

Pisostigmin tetes mata adalah larutan steril pisostigmin sulfat dalam air dan dapat ditambahkan sulfur dioksida tidak lebih dari 0,2%.

Tetes mata memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tetes mata dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari  $(C_{15}H_{21}N_3O_2)_2 \cdot H_2SO_4$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Hangatkan sediaan setara dengan 5 mg pisostigmin sulfat dengan 0,3 ml amonia 5M, terbentuk warna merah kekuningan, uapkan sampai kering. Residu akan memenuhi uji:

- Larutkan residu dalam etanol (96%), terbentuk warna larutan biru, tambah asam asetat 6M, terbentuk warna merah berfluorosensi dan tambah air, terbentuk warna yang lebih kuat.
- Larutkan dalam asam sulfat, terbentuk warna hijau dan tambah etanol (96%), terbentuk warna merah. Uapkan etanol, terbentuk warna hijau.

### Penetapan kadar

Jika mengandung benzalkoniumklorida 0,01% b/v, gunakan metode A dan kurang dari pisostigmin sulfat kurang dari 1% b/v, gunakan metode B.

- Encerkan sediaan sampai konsentrasi pisostigmin sulfat 1% b/v. Pada 2 ml larutan, tambah 5 ml dapar asetat pH 3,7 dan 15 ml larutan natrium tetrafenil borat 0,01M, aduk dan biarkan selama 10 menit. Saring dan bilas wadah dengan air. Titrasi hasil saringan dengan setilpiridinium klorida 0,005M dan 0,5 ml biru bromfenol sebagai indikator. Lakukan titrasi blanko. Jumlah titran yang dipergunakan merupakan selisih titran sediaan dengan blanko.
- Pada 2 ml larutan, tambah 5 ml dapar fosfat pH 10,0 dan 5 ml kloroform. Tambah 0,1 ml biru bromfenol, titrasi dengan natrium tetrafenil borat 0,01M, Aduk sampai lapisan kloroform menjadi tidak berwarna. Pada 2 ml sediaan, gunakan metode A. Selisih tintran antara metode B dan metode A merupakan jumlah titran yang dipergunakan. Setiap ml titran setara 0,003244 g  $(C_{15}H_{21}N_3O_2)_2 \cdot H_2SO_4$ .

### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Povidon Iodium

*Povidone-Iodine*

### Definisi

Povidon iodium adalah campuran antara povidon dengan iodium.

Mengandung tidak kurang dari 9,0% dan tidak lebih dari 12,0% iodium, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk amorf coklat kekuningan atau coklat kemerahan.

**Kelarutan.** Larut dalam air dan dalam etanol (95%), praktis tidak larut dalam aseton.

### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar povidon iodida.
- Larutkan 10 mg dalam 10 ml air dan tambah 1 ml kanji. Terbentuk warna biru.
- Larutkan 0,1 g dalam 5 ml air dan tambah natrium sulfat 10 g/l setetes demi setetes, sampai larutan tidak berwarna. Tambah 2 ml kalium dikromat dan 1 ml asam hidroklorida, terbentuk endapan coklat terang.

**pH.** 1,5—5,0. Larutkan 1,0 g dalam 10 ml air bebas karbon dioksida.

**Iodium.** Tidak lebih dari 6,0% (zat kering). Larutkan 0,5 g dalam 100 ml air. Tambah natrium bisulfat sampai warna iodium hilang. Tambah 25 ml perak nitrat 0,1M, 10 ml asam nitrat dan 5 ml besi (III) amonium sulfat. Titrasi dengan amonium tiosianat 0,1M. Lakukan titrasi blanko.

Setiap ml perak nitrat 0,1M setara 12,69 mg iodium.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 8,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 0,5 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

### Penetapan kadar

Larutkan 1,0 g dalam 150 ml air dan aduk selama 1 jam. Tambah 0,1 ml asam asetat encer dan titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1M, gunakan kanji sebagai indikator.

Setiap ml natrium tiosulfat 0,1M setara 12,69 mg iodium.

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Khasiat

Antiseptik.

## Povidon Iodium Larutan

### Definisi

Larutan povidon iodida adalah larutan mengandung air dari povidon iodida atau interaksi antara iodium dan povidon dalam pembawa yang sesuai.

Larutan memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan kulit dan persyaratan berikut.

Mengandung iodium tidak kurang dari 0,85% b/v dan tidak lebih dari 1,20% b/v.

### Karakteristik

**Pemerian.** Cairan coklat tua.

**Identifikasi**

- A. Encerkan 1 ml dengan air sampai volume 20 ml dan tambah 1 ml larutan (campuran 1 ml kanji mucilage dan 9 ml air). Terbentuk warna biru tua.
- B. Campur 10 ml dengan 0,05 ml larutan kanji dalam labu bersumbat kertas saring. Tidak terbentuk warna biru pada kertas saring dalam 60 detik.
- C. Encerkan 20 ml dengan air sampai batas volume 100 ml. Pada 10 ml, tambah beberapa tetes natrium tiosulfat 0,1 M sampai warna iodium hilang. Pada 5 ml larutan, tambah 10 ml asam hidroklorida 1 M dan 5 ml kalium dikromat 7,0% b/v. Terbentuk endapan merah.
- D. Encerkan 20 ml dengan air sampai batas volume 100 ml. Pada 10 ml, tambah beberapa tetes natrium tiosulfat 0,1 M sampai warna iodium hilang. Pada 5 ml larutan, tambah 2 ml amonium kobaltotiosianat (yang sebelumnya diasamkan dengan asam hidroklorida 5 M). Terbentuk endapan biru.

**Keasaman.** pH 3,0—6,5.

**Iodium.** Tidak lebih dari 0,6% b/v. Encerkan 5 ml dengan air sampai batas volume 100 ml. Tambah natrium bisulfat sampai warna iodium hilang. Tambah 25 ml perak nitrat 0,1 M, 10 ml asam nitrat dan 5 ml besi (III) amonium sulfat. Titrasi dengan amonium tiosianat 0,1 M. Lakukan titrasi blanko.

Setiap ml perak nitrat 0,1 M setara 12,69 mg iodium.

**Penetapan kadar**

Pada 10 ml, tambah 10 ml asam hidroklorida 0,1 M dan air sampai volume 150 ml. Titrasi dengan natrium tiosulfat 0,02 M, tentukan titik akhir secara potensiometrik.

Setiap ml natrium tiosulfat 0,02 M setara 2,538 mg iodium.

**Penyimpanan**

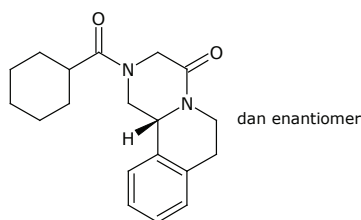
Dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Prazikuantel**

*Praziquantel*



$C_{19}H_{24}N_2O_2$

BM: 312,4

[55268-74-1]

**Definisi**

Prazikuantel adalah (11bRS)-2-(sikloheksil karbonil)-1,2,3,6,7,11b-heksahidro-4H-pirazino[2,1-a]isokui-nolin-4-on.

Mengandung tidak kurang dari 97,5% dan tidak lebih dari 102,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, mudah larut dalam alkohol dan metilen klorida. Terlihat polimorfism.

**Identifikasi**

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar prazikuantel. Jika spektrum yang diperoleh menunjukkan perbedaan, larutankan 50 mg zat uji dan 50 mg standar secara terpisah dalam 2 ml metanol. Uapkan dan keringkan residu pada suhu 60°C dengan tekanan tidak melebihi 0,7 kPa.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 40,0 mg zat uji dengan fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji (a) dengan fase gerak sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 40,0 mg standar prazikuantel dengan fase gerak sampai volume 10,0 ml. Encerkan 1,0 ml dengan fase gerak sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 5 mg standar prazikuantel ketidakhurnian A dalam larutan standar (a) sampai batas volume 25,0 ml. Encerkan 2,0 ml dengan fase gerak sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 1,0 ml larutan uji (a) dengan fase gerak sampai volume 20,0 ml. Encerkan 5,0 ml dengan fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5  $\mu$ m, ukuran 25 cm x 4,0 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Asetonitril dan air (45:55 v/v).

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 210 nm.

**Injek.** 20  $\mu$ l larutan uji (a) dan larutan standar (b) dan (c).

**Waktu uji.** 5 kali waktu tambat prazikuantel (sekitar 9 menit).

**Kesesuaian sistem larutan standar (b).** Resolusi minimum 3,0 antara puncak ketidakhurnian A dan prazikuantel.

**Batas**

**Ketidakhurnian lain.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,5%), tidak lebih dari 1 puncak mempunyai area lebih besar dari 0,4 kali area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,2%).

**Total.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,5%).

**Abaikan batas.** 0,1 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,05%).

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Pada 1,0 g memenuhi uji batas untuk logam berat. Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan diatas difosfor pentoksida dengan suhu 50°C dan tekanan tidak melebihi 0,7 kPa selama 2 jam sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

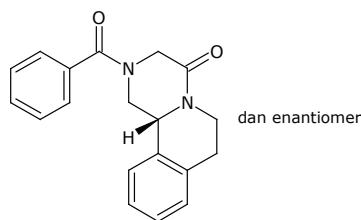
### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis, menggunakan larutan uji (b) dan larutan standar (a).

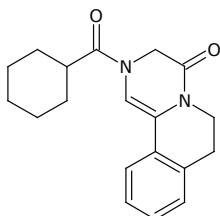
### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

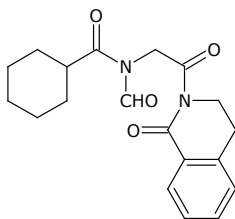
### Ketidakmurnian



- A. (11bRS)-2-benzoyl-1,2,3,6,7,11b-heksahidro-4H-pirazino[2,1-a]isokuinolin-4-on.



- B. 2-(sikloheksilkarbonil)-2,3,6,7-tetrahidro-4H-pirazino[2,1-a]isokuinolin-4-on.



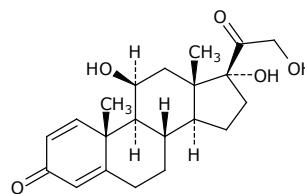
- C. N-formil-N-[2-okso-2-(1-okso-3,4-dihidroisokuinolin-2(1H)-il)etil] sikloheksan karboksamida.

### Khasiat

Obat cacang.

## Prednisolon

*Prednisolone*



$C_{21}H_{28}O_5$

BM: 360,4

[50-24-8]

### Definisi

Prednisolon mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0% dari 11b,17,21-trihidroksipregna-1,4-dien-3,20-dion, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih, higroskopik.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, larut dalam alkohol dan metanol, agak sukar larut dalam aseton, sukar larut dalam metilen klorida. Terlihat polimorfism.

### Identifikasi

- A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar prednisolon. Jika spektrum yang diperoleh zat padat menunjukkan perbedaan, larutan zat uji dan zat standar secara terpisah dalam aseton, uapkan sampai kering dalam penangas air dan catat spektrum baru dari residu.
- B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel dengan indikator fluoresen mempunyai intensitas optimal pada panjang gelombang 254 nm.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 10 mg zat uji dalam campuran 1 volume metanol dan 9 volume metilen klorida sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 20 mg standar prednisolon dalam campuran 1 volume metanol dan 9 volume metilen klorida sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar hidrokortison dalam larutan standar (a) sampai volume 10 ml.

**Fase gerak.** Campuran 10 volume metanol dan 90 volume metilen klorida.

Totolkan 5  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa pada cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a). Semprot dengan larutan asam sulfat-alkohol. Panaskan pada suhu 120°C selama 10 menit atau sampai bercak muncul. Dinginkan, periksa pada cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan

larutan uji sesuai pada tempat, warna, ukuran dan berfluoresensi pada cahaya ultraviolet (365 nm) terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a). Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan 2 bercak yang terpisah.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam dioksan sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis  $+96^\circ$  sampai  $+102^\circ$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 25,0 mg zat uji dalam 2 ml tetrahidrofuran dan encerkan dengan air sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 2 mg standar prednisolon dan 2 mg standar hidrokortison dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil end-capped (basa tidak aktif) 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu  $45^\circ\text{C}$ .

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Fase gerak.** Campurkan 220 ml tetrahidrofuran dan 700 ml air, ekuilibrasikan, dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml, aduk.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injeksi.** 20  $\mu\text{l}$  larutan standar (b).

Ekuilibrasikan kolom dengan fase gerak pada laju alir 1 ml/menit selama 30 menit. Lakukan penyesuaian sensitivitas sistem sehingga tinggi puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) sedikitnya 50% dari skala-penuh.

**Injeksi.** 20  $\mu\text{l}$  larutan standar (a).

Waktu tambat prednisolon sekitar 14 menit dan hidrokortison sekitar 15,5 menit. Uji tidak absah kecuali jika, resolusi antara puncak prednisolon dan hidrokortison pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) adalah 2,2. Jika diperlukan, atur konsentrasi tetrahidrofuran dalam fase gerak.

**Injeksi.** 20  $\mu\text{l}$  pelarut sebagai blanko, 20  $\mu\text{l}$  larutan uji dan 20  $\mu\text{l}$  larutan standar (b).

**Waktu uji.** 4,5 kali waktu tambat puncak utama.

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, area puncak lain, selain puncak utama, tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1%) dan tidak lebih dari puncak yang mempunyai area lebih besar dari setengah area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%). Jumlah area semua puncak, selain puncak utama, tidak lebih besar dari 2,0 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (2%). Abaikan puncak lain yang diperoleh dengan

blanko dan puncak lain dengan area kurang dari 0,05 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0%. Pada pengeringan dengan suhu  $105^\circ\text{C}$  sampai bobot tetap. Gunakan 0,5 g.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam alkohol sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 2,0 ml larutan dengan alkohol sampai batas volume 100,0 ml. Ukur serapan maksimum pada panjang gelombang 243,5 nm.

Hitung  $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_5$  dengan serapan spesifik 415.

#### Penyimpanan

Kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakhurnian

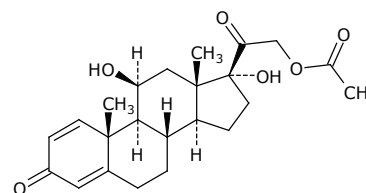
Hidrokortison.

#### Khasiat

Kortikosteroid.

## Prednisolon Asetat

*Prednisolone Acetate*



$\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_6$

BM: 402,5

[52-21-1]

#### Definisi

Prednisolon mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0% dari 11 $\beta$ ,17-dihidroksi-3,20-dioksopregna-,1,4-dien-21-il asetat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, sukar larut dalam alkohol dan metilen klorida.

**Suhu lebur.**  $230^\circ\text{C}$ , dengan dekomposisi.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: C, D, E.

A. Spektrum serapan inframerah sama dengan spektrum serapan standar prednisolon asetat.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel dengan indikator fluoresen mempunyai intensitas optimal pada panjang gelombang 254 nm.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 10 mg zat uji dalam campuran 1 volume metanol dan 9 volume metilen klorida sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 20 mg standar prednisolon asetat dalam campuran 1 volume metanol dan 9 volume metilen klorida sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan 10 mg standar prednisolon pivalat dalam larutan standar (a) sampai volume 10 ml.

**Fase gerak.** Pada campuran 15 volume eter dan 77 volume metilen klorida, tambah campuran 1,2 volume air dan 8 volume metanol.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa pada cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a). Semprot dengan larutan asam sulfat-alkohol. Panaskan pada suhu 120°C selama 10 menit atau sampai bercak muncul. Dinginkan, periksa pada cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, warna, ukuran dan berfluoresensi pada cahaya ultraviolet (365 nm) terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a). Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan 2 bercak yang terpisah.

- C. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel dengan indikator fluoresen mempunyai intensitas optimal pada panjang gelombang 254 nm.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 25 mg zat uji dalam metanol sampai volume 5 ml sambil dipanaskan. Encerkan 2 ml larutan dengan klorida metilen sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan dan encerkan 25 mg zat uji dalam metanol sampai volume 5 ml sambil dipanaskan. Pindahkan 2 ml larutan ke dalam tabung bersumbat atau dengan sumbat politetrafluoroetilen. Tambah 10 ml larutan kalium hidrogen karbonat-metanol dan lewatkan dengan aliran gas nitrogen melalui larutan selama 5 menit. Sumbat tabung, panaskan dalam penangas air pada suhu 45°C, dilindungi dari cahaya, selama 2 jam 30 menit, dan dinginkan.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 25 mg standar prednisolon asetat dalam metanol sampai volume 5 ml sambil dipanaskan. Encerkan 2 ml larutan dengan klorida metilen sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 25 mg standar prednisolon asetat dalam metanol sampai volume 5 ml sambil dipanaskan. Pindahkan 2 ml larutan ke dalam tabung bersumbat atau dengan sumbat politetrafluoroetilen. Tambah 10 ml larutan

kalium hidrogen karbonat-metanol dan lewatkan dengan aliran gas nitrogen melalui larutan selama 5 menit. Sumbat tabung, panaskan dalam penangas air pada suhu 45°C, dilindungi dari cahaya, selama 2 jam 30 menit, dan dinginkan.

**Fase gerak.** Pada campuran 15 volume eter dan 77 volume metilen klorida, tambah campuran 1,2 volume air dan 8 volume metanol.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa pada cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a). Semprot dengan larutan asam sulfat-alkohol. Panaskan pada suhu 120°C selama 10 menit atau sampai bercak muncul. Dinginkan, periksa pada cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, warna, ukuran dan berfluoresensi pada cahaya ultraviolet (365 nm) terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) dan larutan standar (b) mempunyai nilai respon faktor lebih rendah dari bercak utama yang diperoleh dengan larutan uji (a) dan larutan standar (a).

- D. Tambah 2 mg dalam 2 ml asam sulfat dan aduk sampai larut. Dalam 5 menit, terbentuk warna merah. Periksa pada cahaya ultraviolet (365 nm), berfluoresensi coklat kemerahan. Tambahkan larutan dalam 10 ml air dan aduk. Warna menghilang dan berfluoresensi kuning kehijauan pada cahaya ultraviolet (365 nm).

- E. Pada 10 mg memberikan reaksi asetil.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam dioksan sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis +112° sampai +119°, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25,0 mg zat uji dengan metanol sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 2 mg standar prednisolon asetat dan 2 mg standar hidrokortison asetat dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil end-capped (basa tidak aktif) 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, dengan suhu 45°C.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Fase gerak.** Campurkan 350 ml asetonitril dan 600 ml air, ekuilibrasikan, dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml, aduk.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek.** 20 µl larutan standar (b).

Ekuilibrasi kolom dengan fase gerak pada laju alit 1 ml/menit selama 30 menit. Lakukan penyesuaian sensitivitas sistem sehingga tinggi puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) sedikitnya 50% dari skala-penuh.

**Injek.** 20 µl larutan standar (a). Waktu tambat prednisolon asetat sekitar 24 menit dan hidrokortison asetat sekitar 26 menit. Uji tidak absah kecuali jika, resolusi antara puncak prednisolon asetat dan hidrokortison asetat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) adalah 2,5. Jika diperlukan, atur konsentrasi asetoneitril dalam fase gerak.

**Injek.** 20 µl larutan uji dan 20 µl larutan standar (b).

**Waktu uji.** 2,5 kali waktu tambat puncak utama. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, area puncak lain, selain puncak utama, tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1%) dan tidak lebih dari puncak yang mempunyai area lebih besar dari setengah area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%). Jumlah area semua puncak, selain puncak utama, tidak lebih besar dari 2,0 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (2%). Abaikan puncak lain yang diperoleh dengan blanko dan puncak lain dengan area kurang dari 0,05 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam alkohol sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 2,0 ml larutan dengan alkohol sampai batas volume 100,0 ml. Ukur serapan maksimum pada panjang gelombang 243 nm.

Hitung  $C_{23}H_{30}O_6$  dengan serapan spesifik 370.

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakhurnian

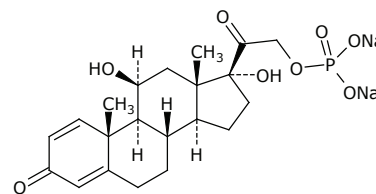
Hidrokortison asetat.

#### Khasiat

Kortikosteroid.

## Prednisolon Natrium Fosfat

*Prednisolone Sodium Phosphate*



$C_{21}H_{27}Na_2O_8P$

BM: 484,4

[125-02-0]

#### Definisi

Prednisolon natrium fosfat mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 103,0% dari 11b,17-dihidroksi-3,20-dioksopregna,-1,4-dien-21-il dinatrium fosfat, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih, higroskopik.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, sangat sukar larut dalam alkohol.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: B, C.

Identifikasi kedua: A, C, D, E.

- Larutkan 10,0 mg dalam 5 ml air dan encerkan dengan etanol sampai batas volume 100,0 ml. Masukkan 2,0 ml larutan ke dalam tabung, tambah 10,0 ml larutan asam sulfat-fenilhidrazin, aduk dan panaskan dalam penangas air pada suhu 60°C selama 20 menit. Dinginkan dengan segera. Serapan maksimum pada panjang gelombang 415 nm adalah 0,10—0,20.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar prednisolon natrium fosfat. Jika spektrum yang diperoleh zat padat menunjukkan perbedaan, larutkan zat uji dan standar secara terpisah dalam alkohol, uapkan sampai kering dalam penangas air dan catat spektrum baru dari residu.
- Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel dengan indikator fluoresen mempunyai intensitas optimal pada panjang gelombang 254 nm.

**Larutan uji.** Larutkan 10 mg zat uji dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 10 mg standar prednisolon natrium fosfat dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar deksametason natrium fosfat dalam metanol sampai volume 10 ml. Encerkan 5 ml larutan dengan larutan standar (a) sampai volume 10 ml.

**Fase gerak.** Campuran 20 volume asam asetat glisial, 20 volume air dan 60 volume butanol.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa pada cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a). Semprot dengan larutan asam sulfat-alkohol. Panaskan pada suhu 120°C selama 10 menit atau sampai bercak muncul. Dinginkan, periksa pada cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, warna, ukuran dan berfluoresensi pada cahaya ultraviolet (365 nm) terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a). Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan 2 bercak yang terpisah.

- D. Tambah 2 mg dalam 2 ml asam sulfat dan aduk sampai larut. Dalam 5 menit, terbentuk warna merah. Periksa pada cahaya ultraviolet (365 nm), berfluoresensi coklat kemerahan. Tambah larutan dalam 10 ml air dan aduk. Warna menghilang dan berfluoresensi kuning kehijauan pada cahaya ultraviolet (365 nm).
- E. Pada 40 mg, tambah 2 ml asam sulfat dan panaskan perlahan-lahan sampai terbentuk uap putih. Tambah asam nitrat setetes demi setetes, lanjutkan pemanasan sampai terbentuk warna larutan hampir tidak berwarna dan dinginkan. Tambah 2 ml air, panaskan sampai terbentuk uap putih, dinginkan, tambah 10 ml air dan netralkan dengan amoniak encer pada kertas lakmus merah. Larutan memberikan reaksi natrium dan fosfat.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 20 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar B<sub>7</sub>.

**pH.** Larutan 7,5—9,0.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam air sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis +94° sampai +100°, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 62,5 mg zat uji dengan fase gerak sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 25 mg standar prednisolon natrium fosfat dan 25 mg standar prednisolon dalam fase gerak sampai batas volume 25,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan fase gerak sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 15 cm x 4,6 mm

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Fase gerak.** Larutkan 1,36 g kalium dihidrogen fosfat dan 0,6 g heksilamin dalam 185 ml air, aduk dan diamkan selama 10 menit. Tambah 65 ml asetonitril,

aduk dan saring dengan penyaring 0,45 µm.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek.** 20 µl larutan standar (b). Lakukan penyesuaian sensitivitas sistem sehingga tinggi puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) 70—90% dari skala-penuh. Ekuilibrase kolom dengan fase gerak pada laju alir 1 ml/menit selama 30 menit. Injek: 20 µl larutan standar (a). Waktu tambat prednisolon natrium fosfat sekitar 6,5 menit dan prednisolon sekitar 8,5 menit. Uji tidak absah kecuali jika, resolusi antara puncak prednisolon asetat dan hidrokortison asetat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) adalah 4,5. Jika diperlukan, atur konsentrasi asetonitril dalam fase gerak.

**Injek.** 20 µl larutan uji dan 20 µl larutan standar (b).

**Waktu uji.** 2,5 kali waktu tambat puncak utama. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, area puncak lain, selain puncak utama, tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (2%) dan tidak lebih dari area puncak yang mempunyai area lebih besar dari setengah area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1%). Jumlah area semua puncak, selain puncak utama, tidak lebih besar dari 1,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (3%). Abaikan puncak lain yang diperoleh dengan pelarut dan puncak lain dengan area kurang dari 0,0025 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b).

**Fosfat.** Larutkan dan encerkan 50 mg dalam air sampai batas volume 100 ml. Pada 10 ml larutan tambahkan 5 ml molibdovanadik, aduk dan diamkan selama 5 menit. Warna kuning dalam larutan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan standar yang disiapkan bersamaan dengan cara sama menggunakan 10 ml standar fosfat (5 ppm PO<sub>4</sub>) (1%).

**Air.** Tidak lebih dari 8,0%. Gunakan 0,2 g.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam air sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 5,0 ml larutan dengan air sampai batas volume 250,0 ml. Ukur serapan maksimum pada panjang gelombang 247 nm.

Hitung C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>8</sub>P dengan serapan spesifik 312.

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Kortikosteroid.

## Prednisolon Injeksi

#### Definisi

Prednisolon injeksi adalah larutan steril prednisolon natrium fosfat dalam air untuk injeksi atau dalam pembawa yang sesuai.



Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan injeksi dan persyaratan berikut.

Mengandung prednisolon, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Karakteristik

**Pemerian.** Larutan tidak berwarna.

### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF254 atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 33 volume air, 47 volume asetat asetat glasial dan 120 butan-1-ol (Siapkan segera sebelum digunakan).

**Larutan (1).** Zat uji setara prednisolon natrium fosfat 0,1% b/v dalam air.

**Larutan (2).** Standar prednisolon natrium fosfat 0,25% b/v dalam air.

**Larutan (3).** Campur larutan (1) dan (2) dengan volume yang sama.

**Larutan (4).** Campur larutan (2) dan standar betametason natrium fosfat 0,25% b/v dalam dengan volume yang sama.

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara, panaskan pada suhu 110°C selama 10 menit. Periksa dengan sinar ultraviolet (254 nm). Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1), (2) dan (3) menunjukkan bercak tunggal dengan nilai R<sub>f</sub> sama. Bercak dari larutan (4) menunjukkan dua bercak dengan nilai R<sub>f</sub> yang sama.

B. Pada penetapan kadar, kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) menunjukkan puncak dengan waktu tambat yang sama dengan puncak prednisolon natrium fosfat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2).

C. Pada sediaan setara dengan 0,2 mg prednisolon natrium fosfat, tambah secara perlahan-lahan 1 ml asam sulfat, biarkan selama 2 menit. Terbentuk warna merah.

**Keasaman atau kebasaan.** pH 7,0—8,5.

**Prednisolon bebas.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

Untuk sediaan mengandung prednisolon natrium fosfat 0,01% b/v atau lebih.

**Larutan (1).** Standar prednisolon 0,00004% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (2).** Sediaan zat uji mengandung prednisolon natrium fosfat 0,001% b/v dalam fase gerak.

**Kolom.** Spherisorb ODS-1 10 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 45 volume metanol dan 55 volume sitro-dapar fosfat pH 5,0 (Campur 48,5 ml asam sitrat 0,1M dengan dinatrium hidrogen fosfat sampai batas volume 100 ml.)

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 247 nm.

**Injek.** 50 µl dari setiap larutan.

Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2), area puncak prednisolon tidak lebih besar dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) (4%).

### Penetapan kadar

Lakukan dengan salah satu metode di bawah ini:

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Zat uji setara dengan prednisolon natrium fosfat 0,001% b/v dalam dalam air.

**Larutan (2).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar prednisolon natrium fosfat dengan air sampai batas volume 100 ml (Larutan A). Encerkan 10 ml larutan A dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Larutan (3).** Pada 10 ml larutan A, tambah 10 ml standar betametason natrium fosfat 0,01% b/v dalam air.

**Kolom.** Spherisorb ODS-1 10 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 45 volume metanol dan 55 volume sitro-dapar fosfat pH 5,0 (Campur 48,5 ml asam sitrat 0,1 M dengan dinatrium hidrogen fosfat sampai batas volume 100 ml.)

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 247 nm.

**Injek.** 50 µl dari setiap larutan.

Uji tidak absah, kecuali jika faktor resolusi antara puncak betametason natrium fosfat dan prednisolon natrium fosfat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) adalah 2,5.

2. Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Sediaan setara dengan 20 mg prednisolon, encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml. Pada 25 ml, tambah 2,5 g natrium klorida, aduk sampai larut, tambah 1 ml asam hidroklorida, dan ekstraksi 3 kali, masing-masing dengan 25 ml kloroform. Bilas ekstrak kloroform dengan 1 ml asam hidrpklorida 0,1M, campur larutan pembilas ke dalam fase cair dan buang ekstrak kloroform. Ekstraksi fase cair 2 kali, masing-masing dengan 10 ml tributil fosfat dan encerkan ekstrak tributil fosfat dengan metanol sampai batas volume 25 ml. Pada 2 ml, tambah 10 ml larutan isoniazid, panaskan dalam tabung bersumbat pada suhu 50°C selama 3 jam. Lindungi larutan dari cahaya, dinginkan.

Ukur pada panjang gelombang maksimum 405 nm. Ulangi proses tersebut menggunakan 25 ml larutan standar prednisolon natrium fosfat setara prednisolon 0,01% b/v, dimulai dari "Tambah 2,5 g natrium klorida.....".

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Prednisolon Tablet****Definisi**

Prednisolon tablet mengandung prednisolon dalam pembawa yang sesuai.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut.

Mengandung prednisolon tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%  $C_{21}H_{28}O_5$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

Ekstraksi serbuk tablet dengan aseton, saring dan evaporasi sampai kering. Residu memenuhi syarat berikut:

- A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar prednisolon.
- B. Memenuhi syarat uji identifikasi steroid, menggunakan pelarut I dan larutan fase gerak A.

**Disolusi.** Sesuai dengan uji disolusi untuk tablet.

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Standar prednisolon 0,1% b/v dalam metanol dan encerkan dengan air sampai konsentrasi 0,0001%.

**Larutan (2).** Gunakan medium yang digunakan untuk disolusi, jika perlu encerkan dengan air sampai konsentrasi prednisolon 0,0001% b/v.

Prosedur kromatografi sesuai dengan yang digunakan pada keseragaman bobot.

Uji tidak absah jika efisiensi kolom, menunjukkan dua puncak pada prednisolon pada kromatogram yang diperoleh larutan (1), tidak lebih besar dari 15.000 pada lempeng teoritis/meter.

Hitung total kandungan  $C_{21}H_{28}O_5$  dalam medium dibandingkan dengan kandungan dari  $C_{21}H_{28}O_5$  standar prednisolon.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan (1).** Pada sediaan setara dengan 10 mg prednisolon, tambah 25 ml metanol, aduk selama 10 menit, aduk menggunakan sonikator selama 2 menit, saring ekstrak dengan kertas saring Whatman GF/F atau yang sesuai, bilas hasil saringan dua kali masing-masing dengan 10 ml metanol, campur hasil saringan dan bilas kembali, evaporasi sampai mendekati kering menggunakan evaporator dan panaskan dalam penangas air. Larutkan residu dengan 10 ml tetrahidrofuran dan encerkan dengan air sampai volume 20 ml.

**Larutan (2).** Standar prednisolon dan standar hidrokortison 0,002% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (3).** Larutkan 1 volume larutan (1) tetrahidrofuran 50% v/v sampai batas volume 100 ml.

**Lempeng.** Silika gel oktadesilsilil ukuran 25 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai. Suhu 45°C.

**Fase gerak.** Campuran 220 volume tetrahidrofuran dengan 700 volume air, jika perlu ekuilibrsai, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm. Jika perlu ekuilibrasi kolom dengan fase gerak, laju alir 1 ml/menit selama 30 menit.

Atur sensitifitas sampai diperoleh puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan (3) Tidak lebih dari 50% dari skala penuh pada rekaman.

**Injek.** 20  $\mu$ l larutan (2). Waktu tambat prednisolon sekitar 14 menit dan hidrokortison sekitar 15,5 menit. Uji tidak absah jika pada kromatogram yang diperoleh larutan (2), faktor resolusi antara dua puncak dari prednisolon dan hidrokortison sekitar 2,2. Jika perlu atur konsentrasi tetrahidrofuran dengan fase gerak.

**Injek.** 20  $\mu$ l campuran larutan (1) sebagai blanko. 20  $\mu$ l larutan (1) dan larutan (3). Lanjutkan kromatografi dengan waktu tambat pada puncak utama selama 4,5 menit.

Pada kromatogram yang diperoleh larutan (1), area puncak dari puncak kedua tidak lebih besar dari puncak utama yang diperoleh dengan larutan (3)(1%). Dan jumlah area dari area lain selain puncak utama tidak lebih besar dari tiga kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) (3%). Abaikan puncak lain dengan area kurang dari 0,05 kali area dari puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan (3) (0,05%) dan waktu tambat sekitar 3 menit atau lebih.

**Keseragaman bobot.** Sediaan setara 2 mg prednisolon memenuhi persyaratan seperti yang tertera pada tablet dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Standar prednisolon 0,0050% b/v dan standar internal deksametason 0,0075% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (2).** Pada tablet, tambah 20 ml fase gerak, aduk dan sonikasi selama 10 menit. Gunakan cairan supernatan.

**Larutan (3).** Standar internal 0,0075% b/v dalam fase gerak.

**Kolom.** Spherisorb ODS 1, 5  $\mu$ m, ukuran 20 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 58 volume metanol dan 42 volume air.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Uji tidak absah kecuali jika faktor resolusi antara puncak prednisolon dan deksametason tidak lebih besar dari 2,5 dan efisiensi kolom yang ditetapkan menggunakan puncak prednisolon pada kromatogram yang diperoleh larutan (1), lebih besar 15.000 lempeng teoritis/meter.

Hitung total kandungan  $C_{21}H_{28}O_5$  dalam medium dibandingkan dengan kandungan dari  $C_{21}H_{28}O_5$  standar prednisolon.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Standar prednisolon 0,0050% b/v dan standar internal deksametason 0,0075% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (2).** Pada sediaan setara 5 mg prednisolon, tambah 58 ml metanol, aduk dan sonikasi selama 10 menit. Encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml. Aduk dan saring.

**Larutan (3).** Lakukan seperti larutan (2) menggunakan 10 ml dari deksametason 0,0075% b/v dalam metanol, dan 48 ml metanol.

**Kolom.** Spherisorb ODS 1, 5  $\mu$ m, ukuran 20 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 58 volume metanol dan 42 volume air.

**Laju alir.** 1,5 ml per menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Uji tidak absah kecuali jika faktor resolusi antara puncak prednisolon dan deksametason tidak lebih besar dari 2,5 dan efisiensi kolom yang ditetapkan menggunakan puncak prednisolon pada kromatogram yang diperoleh larutan (1), lebih besar 15.000 lempeng teoritis/meter.

Hitung total kandungan  $C_{21}H_{28}O_5$  dalam medium dibandingkan dengan kandungan dari  $C_{21}H_{28}O_5$  standar prednisolon.

#### Penyimpanan

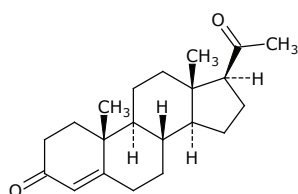
Dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Progesteron

*Progesterone*



$C_{21}H_{30}O_2$

BM: 314,5

[57-83-0]

#### Definisi

Progesteron adalah pregn-4-ene-3,20-dion.

Mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih atau tidak berwarna.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam etanol, agak sukar larut dalam aseton dan minyak lemak. Terlihat polimorfism.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar progesteron. Jika spektrum yang diperoleh zat padat menunjukkan perbedaan, larutkan zat uji dan standar secara terpisah dalam etanol, uapkan sampai kering dan catat spektrum baru dari residu.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 10 mg zat uji dalam campuran 1 volume metanol dan 9 volume metilen klorida sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 20 mg standar progesteron dalam campuran 1 volume metanol dan 9 volume metilen klorida sampai volume 10 ml.

**Lempeng.** Silika gel F<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Etil asetat dan metilen klorida (33:66 v/v).

Totolkan 5  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa pada cahaya ultraviolet (254 nm). Semprot dengan larutan asam sulfat-alkohol, panaskan pada suhu 120°C selama 15 menit atau sampai bercak muncul dan dinginkan. Periksa pada cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, ukuran dan berfluoresensi pada cahaya ultraviolet (365 nm) terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam etanol sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis +186° sampai +194°, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 20,0 mg zat uji dengan metanol sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 2 mg standar progesteron dan 2 mg standar progesteron ketidakmurnian C dalam fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan metanol sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5  $\mu$ m, ukuran 15 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak A.** Air.

**Fase gerak B.** Asetonitril.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0—20	50	50
20—27	50 → 20	50 → 80
27—45	20	80
45—50	50	50

**Laju alir.** 0,8 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 241 nm.

**Injek.** 10 µl.

**Kesesuaian sistem larutan standar (a).** Resolusi minimum 1,5 antara puncak ketidakhurnian C dan progesteron.

#### Batas

**Ketidakhurnian lain.** Tidak lebih dari 0,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

**Total.** Tidak lebih dari 0,8 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,8%).

**Abaikan batas.** 0,05 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 0,5 g.

#### Penetapan kadar

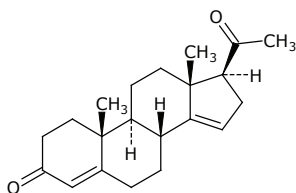
Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Larutkan dan encerkan 25,0 g dalam alkohol sampai batas volume 250,0 ml. Encerkan 5,0 ml larutan dengan alkohol sampai batas volume 50,0 ml. Ukur serapan maksimum pada panjang gelombang 241 nm.

Hitung  $C_{21}H_{30}O_2$  dengan serapan spesifik 535.

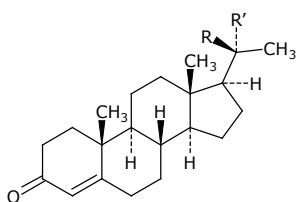
#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakhurnian



A. Pregna-4,14-dien-3,20-dion.

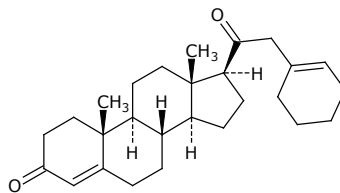


B. R = OH, R' = H: (20S)-20-hidroksipregna-4-en-3-on.

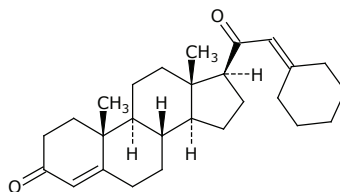
C. R = H, R' = OH: (20R)-20-hidroksipregna-4-en-3-on.

D. R = O-CO-CH<sub>3</sub>, R' = H: (20S)-3-oksopregna-4-en-20-il asetat.

E. R = H, R' = O-CO-CH<sub>3</sub>: (20R)-3-oksopregna-4-en-20-il asetat.



F. 21-(siklohexa-1-enil)pregna-4-en-3,20-dion.



G. 21-(siklohexiliden)pregna-4-en-3,20-dion.

#### Khasiat

Progestogen.

## Progesteron Implan

#### Definisi

Progesteron implan adalah silinder steril yang dibuat dengan cara fusi atau kempa progesteron tanpa ada bahan tambahan.

Implan memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan implan dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari  $C_{21}H_{30}O_2$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Silinder putih.

**Diameter.** Berat kurang dari 50 mg: tidak kurang dari 2 mm dan tidak lebih dari 2,5 mm; Berat antara 50 mg sampai 250 mg: tidak kurang dari 4,25 mm dan tidak lebih dari 4,75 mm.

**Berat.** Setiap implan mempunyai berat tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari berat nominal yang ditetapkan.

#### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar progesteron.

B. Memenuhi syarat identifikasi steroid dengan pelarut II dan fase gerak E.

**Karbon.** Larutan 1% b/v dalam etanol, jernih dan tidak berwarna.

**Suhu lebur.** 128°—133°C.

**Rotasi jenis.** Larutan 1% dalam etanol +186° sampai +194°.

**Penetapan kadar**

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Larutkan sediaan setara dengan 0,1 g progesteron dalam etanol absolut sampai batas volume 100 ml. Encerkan 1 ml dengan etanol absolut sampai batas volume 100 ml. Ukur pada panjang gelombang 241 nm.

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Progesteron Injeksi****Definisi**

Progesteron injeksi adalah larutan steril progesteron dalam etiloleat steril atau gugus ester lain atau dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan injeksi dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar progesteron.
- Larutkan sediaan setara 50 mg progesteron dalam 8 ml petroleum benzin. Ekstraksi 3 kali masing-masing dengan 8 ml campuran 7 bagian asam asetat dan 3 bagian air. Bilas ekstrak dengan 10 ml petroleum benzin. Encerkan dengan air sampai larutan menjadi keruh dan diamkan dalam es selama 2 jam. Saring dan bilas endapan dengan air, keringkan di atas fosfor pentoksida dengan tekanan tidak lebih dari 0,7 kPa. Suhu lebur 97°C.

**Penetapan kadar**

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Larutkan dan encerkan sediaan setara dengan 50 mg progesteron dalam kloroform sampai batas volume 100 ml.

Pada 3 ml larutan, encerkan dengan kloroform sampai volume 50 ml. Pada 5 ml, tambah 10 ml isoniazid (100 mg dalam 150 ml metanol, 0,12 ml asam hidroklorida dan encerkan dengan metanol sampai batas volume 200 ml), encerkan sampai volume 20 ml dan biarkan selama 45 menit. Ukur pada panjang gelombang 380 nm.

**Penyimpanan**

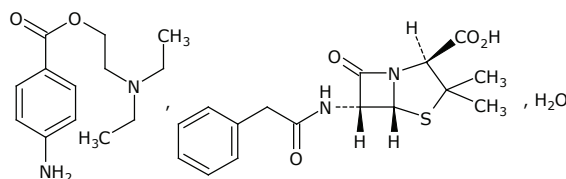
Dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Prokain Benzilpenisilin**

*Procaine Benzylpenicillin*



$C_{13}H_{20}N_2O_2$ ,  $C_{16}H_{18}N_2O_4S$ ,  $H_2O$  BM: 588,7 [6130-64-9]

**Definisi**

Prokain benzilpenisilin adalah monohidrat dari campuran (2S,5R,6R)-3,3-dimetil-7-okso-6-[(fenilasetil) amino]-4-tia-1-azabisi[3,2,0]heptan-2-asam karboksilat dengan 2-(dietilamino)etil 4-aminobenzoat. Mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 102,0% dari prokain benzilpenisilin, tidak kurang dari 39,0% dan tidak lebih dari 42,0% dari prokain ( $C_{13}H_{20}N_2O_2$ ; BM 236,3), dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Sukar larut dalam air, agak sukar larut dalam alkohol.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: A.

Identifikasi kedua: B, C, D.

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar prokain benzilpenisilin.
- Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel silanisasi atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan 25 mg zat uji dalam 5 ml aseton.

**Larutan standar.** Larutkan 25 mg standar prokain benzilpenisilin dalam 5 ml aseton.

**Fase gerak.** Campuran 30 volume aseton dan 70 volume amonium asetat (154 g/l), atur pH 7,0 dengan amonia.

Totolkan 1  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan iodium sampai terbentuk bercak. Dua bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap dua bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar. Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar menunjukkan dua bercak yang terpisah.

- Larutkan 2 mg dengan 0,05 ml air dan tambah 2 ml asam sulfat-formaldehid. Aduk, terbentuk larutan tidak berwarna. Panaskan di atas penangas air selama 1 menit, terbentuk warna coklat kemerahan.
- Larutkan 0,1 g dalam 2 ml asam hidroklorida encer dan gunakan larutan yang keruh. Larutan memberikan reaksi amina aromatik primer.

**pH.** 5,0—7,5. Larutkan dan encerkan 50 mg dalam air bebas karbondioksida sampai volume 15 ml.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam campuran 2 volume air dan 3 volume aseton sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah +165° sampai +180°, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dalam penetapan potensi/kadar, menggunakan:

**Injek.** 10 µl larutan standar (c). Lakukan penyesuaian sensitivitas sistem sehingga tinggi puncak benzilpenisilin adalah 50% dari skala-penuh.

**Injek.** 10 µl larutan uji (satu).

**Waktu uji.** 1,5 kali waktu tambat puncak benzilpenisilin. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), area puncak lain pada asam 4-aminobenzoat tidak lebih besar dari area puncak yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,024%). Area puncak lain, selain 2 puncak utama dan puncak lain pada asam 4-aminobenzoat, tidak lebih besar dari area puncak benzilpenisilin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (1%).

**Air.** 2,8%—4,2%. Gunakan 0,5 g.

**Endotoksin bakteri.** Kurang dari 0,10 IU/mg.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 70,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan dan encerkan 70,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 70,0 mg standar prokain benzilpenisilin dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 4 mg asam 4-aminobenzoat dalam fase gerak sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 16,8 mg asam 4-aminobenzoat dalam air sampai batas volume 50,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan air sampai batas volume 50,0 ml. Pada 1,0 ml larutan, tambah 1,0 larutan uji (a) dan encerkan dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1,75 ml/menit.

**Fase gerak.** Campuran 250 ml asetonitril, 250 ml air dan 500 ml larutan (kalium dihidrogen fosfat 14 g/l dan 6,5 g/l tetrabutylamonium hidroksida (400 g/l), atur pH 7,0 dengan kalium hidroksida 1 M). Jika diperlukan, atur pH 7,2 dengan asam fosfat encer.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 225 nm.

**Injek.** 10 µl larutan standar (b).

Lakukan penyesuaian sensitivitas sistem sehingga tinggi puncak asam 4-aminobenzoat adalah 50% dari skala-penuh. Uji tidak absah kecuali jika, resolusi antara puncak pertama (asam 4-aminobenzoat) dan puncak kedua (prokain) adalah 2,0. Jika diperlukan, atur konsentrasi asetonitril dalam fase gerak.

**Injek.** 6 kali larutan standar (a).

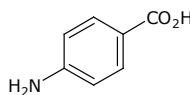
Uji tidak absah kecuali jika, simpangan baku relatif untuk area 2 puncak paling banyak 1,0%.

**Injek.** Larutan uji (b) dan larutan standar (a).

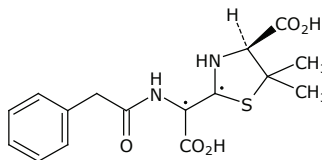
#### Penyimpanan

Kedap udara.

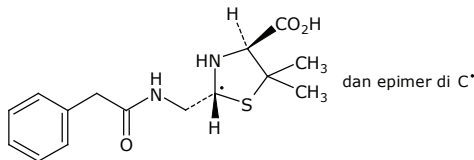
#### Ketidakhayuan



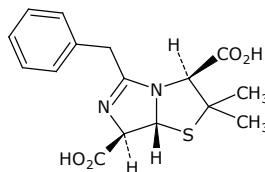
A. Asam 4-aminobenzoat.



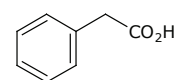
B. Asam (4S)-2-[[karboksi[(fenilasetil)amino]metil]-5,5-dimetiltiazolidin-4-karboksilat (asam penisilat dari benzilpenisilin).



C. Asam (2RS,4S)-2-[[[(fenilasetil)amino]metil]-5,5-dimetiltiazolidin-4-karboksilat (asam penisilat dari benzilpenisilin).



D. Asam (3S,7R,7aR)-5-benzil-2,2-dimetil-2,3,7,7a-tetrahidroimidazo[5,1-b]tiazol-3,7-dikarboksilat (asam penisilat dari benzilpenisilin).



E. Asam fenilasetat.

#### Khasiat

Antibiotik

## Prokain Benzilpenisilin Infus Intramamari

### Definisi

Prokain benzilpenisilin infus intramamari adalah suspensi steril dari prokain benzilpenisilin dalam pembawa yang sesuai. Infus untuk pemberian masa menyusui seperti diuraikan dalam prokain benzilpenisilin infus intramamari (masa menyusui) dan infus untuk pemberian pada masa akhir menyusui diuraikan dalam prokain benzilpenisilin infus intramamari (masa kering).

Infus intramamari memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan infus intramamari dan persyaratan berikut.

Mengandung total penisilin, yang dihitung sebagai  $C_{13}H_{20}N_2O_2$ ,  $C_{16}H_{18}N_2O_4S$ ,  $H_2O$  tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel silanisi (60 atau yang sesuai).

**Fase gerak.** Campuran 30 volume aseton 70 volume amonium asetat 15,4% b/v, atur pH 7,0 dengan amonia 10M.

**Larutan (1).** Larutkan sediaan setara dengan 50 mg prokain benzilpenisilin dengan 5 ml metanol, aduk dan larutkan residu dengan sedikit air. Encerkan dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan (2).** Standar prokain benzilpenisilin 0,5% b/v dalam aseton.

Totolkan 1  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara, paparkan pada uap iodium sampai terbentuk bercak. Dua bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak yang diperoleh dengan larutan (2). Uji tidak absah kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Ekstraksi sediaan setara 70 mg prokain benzilpenisilin 3 kali masing-masing dengan 15 ml petroleum benzin (titik didih, 120°—160°C), buang ekstrak, bilas residu dengan 5 ml eter dan keringkan dengan aliran udara. Larutkan residu dalam 50 ml fase gerak, aduk, saring dan gunakan hasil saringan.

**Larutan (2).** Campuran 1 ml larutan (1) dan 1 ml asam 4-aminobenzoat acid 0,007% b/v, encerkan dengan fase gerak sampai batas volume 100 ml.

**Larutan (3).** Larutkan 4 mg asam 4-aminobenzoat dalam 25 ml standar prokain benzilpenisilin 0,070% b/v dalam fase gerak.

**Kolom.** Lichrosphere ODS 5  $\mu$ m, ukuran 25 cm  $\times$  4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 225 nm.

**Fase gerak.** Campur 250 volume asetonitril, 250 volume air dan 500 volume larutan segar mengandung kalium dihidrogen fosfat 1,4% b/v dan tetrabutylammonium hidroksida 0,65% b/v, atur pH 7,0 dengan kalium hidroksida 1 M atau dengan asam fosfat 2 M.

Lakukan penyesuaian sensitivitas sehingga tinggi puncak benzilpenisilin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) adalah 50% skala-penuh. Lanjutkan proses kromatografi sampai 1,5 kali waktu tambat puncak benzilpenisilin. Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3), faktor resolusi antara puncak asam 4-aminobenzoat dan prokain adalah 2,0. Jika yang diperlukan, lakukan penyesuaian asetonitril pada fase gerak. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) area puncak asam 4-aminobenzoat tidak lebih besar dari 10 kali area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (0,5%) dan area puncak kedua tidak lebih besar dari area puncak benzilpenisilin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (1%).

**Air.** Tidak lebih dari 1,0% b/b. Gunakan 3 g dan campuran 70 volume kloroform serta 30 volume metanol anhidrat sebagai pelarut.

### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik
2. Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti dalam uji senyawa sejenis, menggunakan:

**Larutan (1).** Pada sediaan setara dengan 70 mg prokain benzilpenisilin, ekstraksi tiga kali, masing-masing dengan 15 ml petroleum benzin (titik didih, 120°—160°C), buang ekstrak, bilas residu dengan 5 ml eter dan keringkan dalam aliran udara. Larutkan residu dengan 50 ml fase gerak, aduk, saring dan gunakan hasil saringan.

**Larutan (2).** Standar prokain benzilpenisilin 0,07% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (3).** Encerkan 4 mg asam 4-aminobenzoat dalam 25 ml larutan (2).

Inject larutan (3), zat yang terelusi adalah asam 4-aminobenzoat, prokain, benzilpenisilin. Lakukan penyesuaian sensitivitas sehingga tinggi puncak asam 4-aminobenzoat adalah 50% skala-penuh. Penetapan kadar tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh, faktor resolusi antara puncak asam 4-aminobenzoat dan prokain sedikitnya 2,0. Jika yang diperlukan, lakukan penyesuaian asetonitril pada fase gerak.

### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Prokain Benzilpenisilin Injeksi****Definisi**

Prokain benzilpenisilin injeksi adalah suspensi steril dari prokain benzilpenisilin dalam air untuk injeksi atau dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung total penisilin, yang dihitung sebagai  $C_{13}H_{20}N_2O_2$ ,  $C_{16}H_{18}N_2O_4S$ ,  $H_2O$  tidak kurang dari 95% dan tidak lebih dari 105% dan mengandung prokain,  $C_{13}H_{20}N_2O_2$  tidak kurang dari 36,0% dan tidak lebih dari 44,0% dari jumlah prokain benzilpenisilin.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Suspensi putih.

**Identifikasi**

- A. Encerkan sediaan setara dengan 10 mg prokain benzilpenisilin dengan air sampai volume 10 ml. Tambah 0,5 ml larutan merah netral. Tambah natrium hidroksida 0,01 M sampai terbentuk warna orange tetap dan tambah 1 ml larutan penisilinase. Terbentuk warna merah.
- B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel silanisi (60 atau yang sesuai).

**Fase gerak.** Campur 30 volume aseton 70 volume larutan amonium asetat 15,4% b/v, atur pH 7,0 dengan amonia 10 M.

**Larutan (1).** Sediaan setara dengan 50 mg prokain benzilpenisilin, tambah 5 ml metanol, aduk, larutkan dan encerkan residu dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan (2).** Standar prokain benzilpenisilin 0,5% b/v dalam aseton.

Totolkan 1  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Paparkan pada uap iodium sampai terbentuk bercak. Dua bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak yang diperoleh dengan larutan (2). Uji tidak absah kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

- C. Memberikan reaksi amina primer dan terbentuk endapan orange-merah terang.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Sediaan setara 70 mg prokain benzilpenisilin, tambah fase gerak sampai batas volume 50 ml, aduk, saring dan gunakan hasil saringan.

**Larutan (2).** Campur 1 ml larutan (1) dan 1 ml larutan asam 4-aminobenzoat 0,007% b/v dan tambah fase gerak sampai batas volume 100 ml.

**Larutan (3).** Larutkan 4 mg asam 4-aminobenzoat dalam 25 ml standar prokain benzilpenisilin 0,070% b/v.

**Kolom.** Lichrosphere ODS 5  $\mu$ m, ukuran 25 cm  $\times$  4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 225 nm.

**Fase gerak.** Campur 250 volume asetonitril, 250 volume air dan 500 volume larutan segar mengandung kalium dihidrogen fosfat 1,4% b/v dan tetrabutylamonium hidroksida 0,65% b/v, atur pH 7,0 dengan kalium hidroksida 1 M atau dengan asam fosfat 2 M.

Injek larutan (3), zat yang terelusi adalah asam 4-aminobenzoat, prokain benzilpenisilin. Lakukan penyesuaian sensitivitas sehingga tinggi puncak benzilpenisilin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) adalah 50% skala-penuh. Untuk larutan (1) waktu uji 1,5 kali waktu tambat benzilpenisilin. Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3), faktor resolusi antara puncak asam 4-aminobenzoat dan prokain adalah 2,0. Jika diperlukan, atur volume asetonitril dalam fase gerak. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) area puncak asam 4-aminobenzoat tidak lebih besar dari 10 kali area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (0,5%) dan area puncak kedua tidak lebih besar dari area puncak benzilpenisilin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (1%).

**Endotoksin bakteri.** Lakukan uji untuk endotoksin bakteri. Sediaan setara dengan 3 mg/ml prokain benzilpenisilin (larutan A). Batas endotoksin larutan A adalah 0,3 IU/ml.

**Penetapan potensi/kadar**

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi seperti cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti dalam uji senyawa sejenis, menggunakan:

**Larutan (1).** Sediaan setara dengan 70 mg prokain benzilpenisilin, tambah fase gerak sampai batas volume 100 ml, campur, saring dan gunakan hasil saringan.

**Larutan (2).** Standar prokain benzilpenisilin 0,07% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (3).** Encerkan 4 mg asam 4-aminobenzoat dalam 25 ml larutan (2).

Injek larutan (3), zat yang terelusi adalah asam 4-aminobenzoat, prokain, benzilpenisilin. Lakukan penyesuaian sensitivitas sehingga tinggi puncak asam 4-aminobenzoat adalah 50% skala-penuh. Penetapan kadar tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh, faktor resolusi antara puncak asam 4-aminobenzoat dan prokain adalah 2,0. Jika diperlukan, atur volume asetonitril dalam fase gerak. Hitung kadar dari  $C_{13}H_{20}N_2O_2$ , dan  $C_{16}H_{18}N_2O_4S$ ,  $H_2O$ .



**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Prokain Benzilpenisilin G Injeksi****Definisi**

Prokain penisilin injeksi adalah suspensi steril prokain penisilin G dalam air untuk injeksi atau pembawa lain yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan injeksi dan persyaratan berikut:

Mengandung penisilin, dihitung sebagai  $C_{13}H_{20}N_2O_2$ ,  $C_{16}H_{18}N_2O_4S \cdot H_2O$  tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0%, dari jumlah yang tertera pada etiket

**Karakteristik**

**Pemerian.** Suspensi putih.

**Identifikasi**

- Larutkan sediaan setara dengan 10 mg prokain penisilin dalam 10 ml air dan tambah 0,5 ml larutan merah netral. Tambah natrium hidroksida 0,01 M sampai terbentuk warna orange tetap dan tambah 1 ml larutan penisilinase, terbentuk warna merah.
- Menunjukkan reaksi khas aromatik amin primer, endapan merah cerah atau jingga.

**Penetapan potensi/kadar**

Lakukan penetapan seperti pada penetapan potensi/kadar prokain penisilin.

**Penyimpanan**

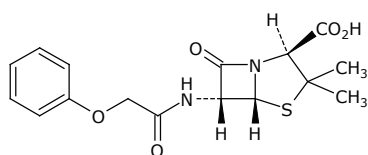
Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Fenoksimetilpenisilin**

*Phenoxymethylpenicillin*



$C_{16}H_{18}N_2O_5S$

BM: 350,4

[87-08-1]

**Definisi**

Fenoksimetilpenisilin adalah asam (2S,5R,6R)-3,3-dimetil-7-okso-6-[(fenoksiasetil)amino]-4-tia-1-aza-bisiklo[3.2.0]heptan-2-karbosilat, zat yang diproduksi dengan pertumbuhan strain *Penicillium notatum* atau dengan cara yang sesuai.

Mengandung tidak kurang dari 95% dan tidak lebih dari 100,5% dari fenoksimetilpenisilin dan 4-hidroksi-fenoksimetilpenisilin, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih, sedikit higroskopis.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, larut dalam etanol (96%)

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: B.

Identifikasi kedua: A, C, D.

- Memenuhi uji pH.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar fenoksimetilpenisilin.
- Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel H atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan 25 mg zat uji dalam 5 ml aseton.

**Larutan standar (a).** Larutkan 25 mg standar fenoksimetilpenisilin dalam 5 ml aseton.

**Larutan standar (b).** Larutkan 25 mg standar kalium fenoksimetilpenisilin dan 25 mg standar kalium benzilpenisilin dalam 5 ml air.

**Fase gerak.** Campur 30 volume aseton dan 70 volume amonium asetat (154 g/l), atur pH 5,0 dengan asam asetat glisial.

Totolkan 1  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan uap iod sampai terbentuk bercak. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a). Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan 2 bercak yang terpisah.

- Larutkan 2 mg dalam 0,05 ml air dan tambah 2 ml asam sulfat-formaldehid (campur 2 ml formaldehid dengan 100 ml asam sulfat 96% b/b). Aduk, terbentuk warna coklat kemerahan. Panaskan di atas penangas air selama 1 menit, terbentuk warna coklat tua kemerahan.

**pH.** 2,4—4,0. Suspensikan 50 mg dalam air bebas karbon dioksida.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam butanol sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis  $+186^\circ$  sampai  $+200^\circ$ , dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti pada penetapan potensi/kadar, gunakan: Injek 20  $\mu$ l larutan standar (d) dan elusi secara isokratik dengan fase gerak sampai puncak fenoksimetilpenisilin terelusi. Atur sensitifitas sistem sehingga perbandingan puncak dengan puncak pengganggu adalah 3. Injek masing-masing 20  $\mu$ l

larutan standar (e) dan larutan uji (b). Lakukan elusi secara isokratik sampai puncak fenoksimetilpenisilin terelusi kemudian lakukan elusi secara linier gradien.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)	Keterangan
0—20	60 → 0	40 → 100	Linier gradien
20—35	0	100	Isokratik
35—50	0 → 60	100 → 40	Re-ekuilibras

Injek campuran disolusi dan gunakan elusi yang sama untuk memperoleh blanko. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b), bila ada puncak lain yang merupakan bagian dari puncak utama dan puncak 4-hidroksifenoksimetilpenisilin, tidak lebih besar dari puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e) (1%).

**4-hidroksifenoksimetilpenisilin.** Tidak lebih dari 4,0%. Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera pada penetapan potensi/kadar. Dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

**Air.** Tidak lebih dari 0,5%. Gunakan 1,0 g.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Campuran disolusi.** Pada 250 ml kalium dihidrogen fosfat, tambah 500 ml air dan atur pH 6,5 dengan natrium hidroksida (8,4 g/l). Encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 50,0 mg zat uji dalam campuran disolusi sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan dan encerkan 80,0 mg zat uji dalam campuran disolusi sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 55,0 mg standar kalium fenoksimetilpenisilin dalam campuran disolusi sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 4,0 mg standar 4-hidroksifenoksimetilpenisilin dalam campuran disolusi sampai volume 10,0 ml. Encerkan 5,0 ml larutan dengan campuran disolusi sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar kalium fenoksimetilpenisilin dan 10 mg benzilpenisilin natrium dalam campuran disolusi sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (d).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dengan campuran disolusi sampai volume 20 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan campuran disolusi sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (e).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dengan campuran disolusi sampai volume 25 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Fase gerak A.** Campur 10 volume dapar fosfat pH 3,5, 30 volume metanol dan 60 volume air.

**Fase gerak B.** Campur 10 volume dapar fosfat pH 3,5, 35 volume air dan 55 volume metanol.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Ekuilibras kolom dengan perbandingan fase gerak A:B (60:40). Injek 20 µl larutan standar (c). Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh, resolusi antara 2 puncak utama adalah 6,0 (bila perlu atur perbandingan fase gerak A:B) dan perbandingan distribusi berat untuk puncak kedua (fenoksimetilpenisilin) adalah 5,0—7,0. Injek larutan standar (a) 6 kali. Uji tidak absah kecuali jika, simpangan baku untuk area puncak utama tidak lebih dari 1,0%. Injek larutan uji (a), larutan standar (a) dan (b).

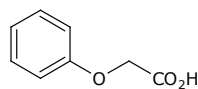
Hitung persentase kadar fenoksimetilpenisilin dengan mengalikan persentase kadar fenoksimetilpenisilin kalium dengan 0,902. Hitung persentase kadar 4-hidroksifenoksimetilpenisilin dengan mengalikan faktor koreksi standar.

#### Penyimpanan

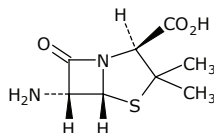
Wadah kedap udara.

#### Ketidakhurnian

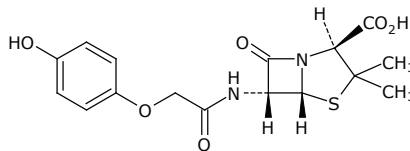
A. Benzilpenisilin.



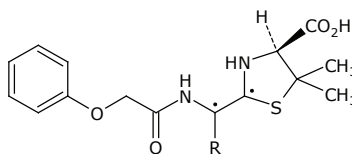
B. Asam fenoksisasetat.



C. Asam (2S,5R,6R)-6-amino-3,3-dimetil-7-okso-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptan-2-karboksilat (asam 6-aminopenisilanat).



D. Asam (2S,5R,6R)-3,3-dimetil-7-okso-6-[[2-(4-hidroksifenoksi)asetil]amino]-4-tia-1-azabisiklo[3.2.0]heptana-2-karboksilat (4-hidroksifenoksimetilpenisilin).



E. R = CO<sub>2</sub>H: Asam (4S)-2-[karboksi[(fenoksisasetil)amino]metil]-5,5-dimetiltiazolidin-4-karboksilat

(asam penisiloat dari fenoksimetilpenisilin).

F. R = H: Asam (2RS,4S)-5,5-dimetil-2-[[fenoksi-asetil]amino]metil]tiazolidin-4-karboksilat (asam penisiloat dari fenoksimetilpenisilin).

### Khasiat

Antibiotik.

## Fenoksimetilpenisilin Kalium Tablet

### Definisi

Fenoksimetilpenisilin kalium tablet adalah tablet salut yang mengandung fenoksimetilpenisilin kalium dalam pembawa sesuai.

Mengandung total penisilin tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% yang dihitung sebagai  $C_{16}H_{18}N_2O_5S$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

- Larutkan dan encerkan 80 mg fenoksimetilpenisilin kalium dengan air sampai batas volume 250 ml, saring. Serapan menunjukkan maksimum pada panjang gelombang 268 nm dan 274 nm, dan minimum pada 272 nm. Serapan pada 268 nm sekitar 1,2.
- Larutkan 10 mg fenoksimetilpenisilin kalium dengan 10 ml air dan tambah 0,5 ml larutan merah netral. Tambah natrium hidroksida 0,01 M sampai terbentuk warna orange tetap. Tambah 1,0 ml larutan penisilnase, terbentuk warna merah.
- Pijarkan 0,5 g serbuk tablet, tambah 5 ml asam klorida 2 M, didihkan, dinginkan dan saring. Hasil saringan memberikan reaksi garam kalium.

**Disolusi.** Memenuhi syarat disolusi untuk tablet dan kapsul.

### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
- Lakukan dengan metode titrasi menggunakan:

Larutkan 0,1 g fenoksimetilpenisilin dengan 80 ml air selama 5 menit, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml, saring. Pada 10 ml hasil saringan, tambah 5 ml natrium hidroksida 1 M, biarkan selama 20 menit. Tambah 20 ml dapar (yang mengandung natrium asetat 5,44% b/v dan asam asetat glasial 2,40% b/v), 5 ml asam klorida 1 M dan 2 ml iodium 0,01 M. Sumbat labu, biarkan selama 20 menit, lindungi dari cahaya.

Titrasi kelebihan iodium 0,01 M dengan natrium tiosulfat 0,02 M, menggunakan kanji sebagai indikator yang ditambahkan sebelum mendekati titik akhir. Lakukan titrasi blanko. Selisih jumlah titran merupakan jumlah titran yang diperlukan. Hitung total penisilin dibandingkan dengan menggunakan 10 ml larutan 0,1% fenoksimetilpenisilin kalium.

Setiap mg fenoksimetilpenisilin kalium standar setara dengan 0,9019 mg total penisilin yang dihitung sebagai  $C_{16}H_{18}N_2O_5S$ .

### Penyimpanan

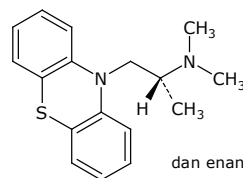
Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Prometazin Hidroklorida

*Promethazine Hydrochloride*



dan enantiomer , HCl

$C_{17}H_{20}N_2S$ , HCl

BM: 320,9

[58-33-3]

### Definisi

Prometazin hidroklorida mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari (2RS)-N,N-dimetil-1-(10H-fenotiazin-10-il)propan-2-amina hidroklorida, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kuning terang.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air, mudah larut dalam alkohol dan metilen klorida.

**Suhu lebur.** 222°C, dengan dekomposisi.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B, D.

Identifikasi kedua: B, C, D.

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar prometazin hidroklorida.
- Memenuhi uji identifikasi untuk fenotiazin dengan metode kromatografi lapis tipis.
- Larutkan 0,1 g dalam 3 ml air. Tambah setetes demi setetes 1 ml asam nitrat. Terbentuk endapan dengan cepat larut dan warna larutan merah, menjadi jingga dan kuning. Didihkan, terbentuk larutan jingga dan endapan merah jingga.
- Memberikan reaksi klorida.

**pH.** 4,0—5,0. Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam air bebas karbon dioksida sampai 10 ml.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,20 g zat uji dalam campuran 5 volume dietilamin dan 95 volume metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar isoprometazin hidroklorida dalam campuran 5 volume dietilamin dan 95 volume metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 0,5 ml larutan uji dengan campuran 5 volume dietilamin dan 95 volume metanol sampai volume 100 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 0,2 ml larutan uji dengan campuran 5 volume dietilamin dan 95 volume metanol sampai volume 100 ml.

**Fase gerak.** Campur 5 volume dietilamin, 10 volume aseton dan 85 volume sikloheksan.

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa pada cahaya ultraviolet (254 nm). Abaikan bercak lain di titik awal. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji bercak lain pada isoprometazin hidroklorida tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan yang diperoleh dengan larutan standar (a) (1%). Bercak lain, selain bercak utama dan bercak utama isoprometazin hidroklorida, tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%) dan paling banyak tiga bercak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,2%).

**Logam berat.** Larutkan 1,0 g dalam 5 ml air, tambah 5 ml aseton dan 5 ml larutan dapar asetat pH 3,5. Memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan 5 ml standar (2 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

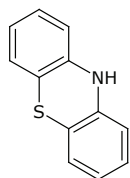
#### Penetapan kadar

Larutkan 0,25 g dalam campuran 5,0 ml asam hidroklorida 0,01 M dan 50 ml alkohol. Titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 M secara potensiometrik. Catat volume antara kedua titik infleksi. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 32,09 mg C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>ClN<sub>2</sub>S.

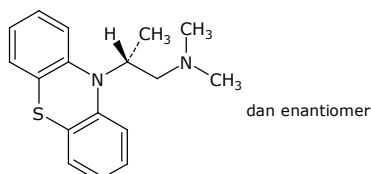
#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakhurnian

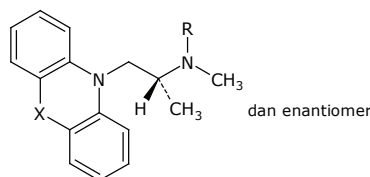


A. Fenotiazina.



B. (2RS)-N,N-dimetil-2-(10H-fenotiazin-10-il)

propan-1-amin (isoprometazina).



C. R = H, X = S: (2RS)-N-metil-1-(10H-fenotiazin-10-il)propan-2-amina.

D. R = CH<sub>3</sub>, X = SO: (2RS)-N,N-dimetil-1-(10H-fenotiazin-10-il)propan-2-amina S-oksida.

#### Khasiat

Obat cacing, antagonis reseptor histamin H<sub>1</sub>.

### Prometazin Injeksi

#### Definisi

Prometazin injeksi adalah larutan steril prometazin hidroklorida dalam air untuk injeksi atau pembawa lain yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan injeksi dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Larutan tidak berwarna atau hampir tidak berwarna.

#### Identifikasi

A. Sediaan setara 100 mg prometazin hidroklorida, tambah 20 ml air dan 2 ml natrium hidroksida 10 M. Aduk dan ekstraksi dengan 25 ml eter. Bilas ekstrak eter 2 kali masing-masing dengan 5 ml air. Saring fase eter melalui natrium sulfat anhidrat dan uapkan sampai kering. Spektrum serapan inframerah dari residu sesuai dengan spektrum serapan standar prometazin.

B. Pada sediaan setara dengan 5 mg prometazin hidroklorida, tambah dengan hati-hati 2 ml asam sulfat dan biarkan selama 5 menit, terbentuk warna merah.

C. Pada sediaan setara dengan 0,2 g prometazin hidroklorida, tambah kalium karbonat secukupnya sampai larutan jenuh, ekstraksi 2 kali masing-masing dengan 10 ml eter, uapkan ekstrak eter sampai kering.

Larutkan residu dalam 2 ml metanol dan masukan ke dalam larutan 0,4 g asam pikrat dalam 10 ml metanol, sebelumnya dihangatkan sampai suhu 50°C. Dinginkan, kocok labu sampai terjadi kristalisasi, biarkan selama 3—4 menit, dan saring. Bilas residu dan panaskan sampai kering. Suhu lebur 160°C.

**pH.** 5,0—6,0.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub>, atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 15 volume dietilamin, 45 volume heksan dan 50 volume aseton.

**Larutan (1).** Gunakan volume injeksi yang telah di encerkan, jika perlu dengan campuran 5 volume dietilamin dan 95 volume metanol yang mengandung prometazin hidroklorida 1,0% b/v.

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan (1) sampai 200 volume dengan campuran 5 volume dietilamin dan 95 volume metanol yang mengandung prometazin hidroklorida 1,0% b/v.

**Larutan (3).** Standar isoprometazin hidroklorida 0,01% b/v dalam campuran 5 volume dietilamin dan 95 volume metanol.

**Larutan (4).** Standar prometazin sulfoksida 0,025% b/v dalam 5 volume dietilamin dan 95 volume metanol.

Angkat lempeng dan keringkan di udara, semprot dengan asam perklorat 20% b/v dan panaskan pada suhu 100°C selama 5 menit.

Pada kromatogram yang diperoleh larutan (1) bercak isoprometazin tidak lebih kuat intensitasnya dari bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3)(1%), bercak prometazin sulfoksida tidak lebih kuat intensitasnya dari bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (4) (2,5%), dan bercak lain selain bercak kedua lebih kuat intensitasnya dari bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (0,5%).

Abaikan bercak lain yang muncul pada garis.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji:

Selama pengujian larutan harus terlindung dari cahaya. Pada sediaan setara dengan 25 mg prometazin hidroklorida, tambah asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 100 ml.

Encerkan 10 ml larutan dengan asam hidroklorida sampai batas volume 100 ml. Pada 10 ml larutan, encerkan dengan asam hidroklorida sampai batas volume 50 ml.

Ukur pada panjang gelombang 249 nm.

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Prometazin Tablet

#### Definisi

Prometazin tablet mengandung prometazin dalam pembawa yang sesuai.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>S.HCl dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

A. Sediaan setara 40 mg prometazin hidroklorida, tambah 10 ml air dan 2 ml natrium hidroksida 1 M, kocok, ekstraksi dengan 15 ml eter. Cuci ekstrak eter dengan 5 ml air, keringkan atau saring dengan natrium sulfat anhidrat, uapkan eter sampai kering, larutkan residu dengan 0,4 ml kloroform.

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar prometazin hidroklorida.

B. Pada sediaan setara dengan 5 mg prometazin hidroklorida, tambah 5 ml asam sulfat dan biarkan selama 5 menit, terbentuk warna merah.

C. Larutkan sediaan, setara dengan 0,2 g prometazin hidroklorida dalam 2 ml air, saring, jenuhkan dengan kalium karbonat, ekstraksi 2 kali masing-masing dengan 10 ml eter. Uapkan ekstrak eter sampai kering, larutkan residu dalam 2 ml metanol dan tuangkan kedalam 0,4 g asam pikrat dalam 10 ml metanol pada suhu kira-kira 50°C. Dinginkan, kerok kristal yang terbentuk, biarkan selama 3 sampai 4 jam, saring. Bilas kristal dengan metanol. Suhu lebur 160°C.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub>, atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 5 volume dietilamin dan 95 volume metanol.

**Larutan (1).** Larutkan sediaan setara dengan 0,1 g prometazin hidroklorida dengan 10 ml campuran 5 volume dietilamin dan 95 volume metanol dan saring.

**Larutan (2).** Mengandung prometazin hidroklorida 0,010% b/v dengan campuran 5 volume dietilamin dan 95 volume metanol.

**Larutan (3).** Encerkan 1 volume larutan (1) sampai volume 200 dengan campuran 5 volume dietilamin dan 95 volume metanol.

Pada kromatogram yang diperoleh larutan (1) bercak isoprometazin tidak lebih kuat intensitasnya dari bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2)(1%), dan bercak lain selain bercak kedua lebih kuat intensitasnya dari bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) (0,5%). Abaikan bercak lain yang muncul pada garis.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji:

Sediaan setara dengan 50 mg prometazin hidroklorida, tambah 10 ml asam klorida 2M dan 200 ml air (lindungi larutan dari cahaya), kocok selama 15 menit dan tambah air sampai batas volume 500 ml. Sentrifus 50 ml larutan.

Pada 5 ml supernatan, tambah 10 ml asam klorida

0,1 M dan air sampai batas volume 100 ml.

Ukur pada panjang gelombang 249 nm.

### Penyimpanan

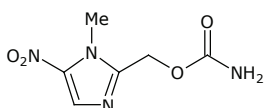
Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Ronidazol

*Ronidazole*



$C_6H_8N_4O_4$

BM: 200,2

[7681-76-7]

### Definisi

Ronidazol adalah (1-metil-5-nitroimidazol-2-il) metil-karbamat.

Mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% dari  $C_6H_8N_4O_4$ , dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih-kuning kecoklatan.

**Kelarutan.** Sukar larut dalam air, kloroform dan etanol (96%); sangat sukar larut dalam eter.

### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar ronidazol.
- Serapan cahaya, pada panjang gelombang 230—350 nm larutan 0,002% b/v dalam asam hiroklorida-metanol 0,1 M. Serapan maksimum hanya pada panjang gelombang 270 nm adalah 0,64.
- Suhu lebur 167°C.

**Warna larutan.** Larutan 0,5% b/v dalam metanol tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar  $Y_6$ .

**(1-Metil-5-nitroimidazol-2-il)Metanol.** Lakukan dengan metoda kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF254.

**Fase gerak.** Campur 5 volume asam asetat glasial, 5 volume metanol dan 80 volume toluen.

**Larutan (1).** Zat uji 1,0% b/v dalam aseton.

**Larutan (2).** Standar (1-metil-5-nitroimidazol-2-il) metanol 0,0050% b/v dalam aseton.

Totolkan 20  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm).

Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan (1-metil-5-nitroimidazol-2-

il) metanol dan tidak lebih kuat dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (0,5%).

**Air.** Tidak lebih dari 0,5% b/b. Gunakan 5,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.

### Penetapan kadar

Lakukan titrasi bebas air, menggunakan 0,3 g dan tentukan titik-akhir secara potentiometrik.

Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 20,02 mg  $C_6H_8N_4O_4$ .

### Penyimpanan

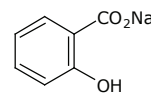
Dilindungi dari cahaya.

### Khasiat

Antiprotozoa.

## Salisilat Natrium

*Sodium Salicylate*



$C_7H_5NaO_3$

BM: 160,1

[54-21-7]

### Definisi

Natrium salisilat mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari natrium 2-hidroksi-benzenkarboksilat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih, atau tidak berwarna atau mengkilat.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam alkohol.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, C.

Identifikasi kedua: B, C.

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar natrium salisilat.

B. Larutan S memberikan reaksi salisilat.

C. Memberikan reaksi natrium.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 5,0 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 50,0 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar  $BY_6$ .

**Keasaman.** Pada 20 ml larutan S, tambah 0,1 ml larutan fenol merah. Larutan menjadi kuning. Tidak lebih dari 2,0 ml natrium hidroksida 0,01 M diperlukan untuk mengubah warna indikator menjadi violet-kemerahan.

**Klorida.** Pada 5 ml larutan S, tambah 5 ml air dan 10 ml asam nitrat, saring. Pada 10 ml hasil saringan, encerkan dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas klorida (200 ppm).

**Sulfat.** Pada 2,5 ml larutan S, encerkan dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas sulfat (600 ppm).

**Logam berat.** Larutkan 1,6 g dalam 16 ml campuran 5 volume air dan 10 volume alkohol. Pada 12 ml larutan, memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan standar timbal (2 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,130 g dalam 30 ml asam asetat glasial. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M, tentukan titik akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 16,01 mg  $C_7H_5NaO_3$ .

#### Penyimpanan

Kedap udara, dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Anti radang; analgesik.

## Sarafloksasin Hidroklorida

*Sarafloxacin Hydrochloride*

#### Definisi

Sarafloksasin hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk hablur berwarna kekuningan.

**Kelarutan.** Larut dalam larutan basa dan asam mineral.

#### Identifikasi

- Pada kromatogram yang diperoleh pada penetapan kadar, waktu tambat yang diperoleh larutan uji sama dengan waktu tambat yang diperoleh dengan standar sarafloksasin hidroklorida.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sarafloksasin hidroklorida.

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm (Pb).

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50 mg sarafloksasin hidroklorida dengan campuran 450 ml air dengan 50 ml tetrahidrofuran sampai batas volume 200 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 25 mg standar sarafloksasin hidroklorida dengan campuran 450 ml air dengan 50 ml tetrahidrofuran sampai batas volume 100 ml.

**Kolom.** YMC A-303 atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 90 volume campuran dapar fosfat (2,5 g kalium fosfat monobasa dalam 800 ml) dan 10 ml trietilamin pH 3 dengan 10 volume tetrahidrofuran v/v.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

**Injek.** 20  $\mu$ l.

#### Penyimpanan

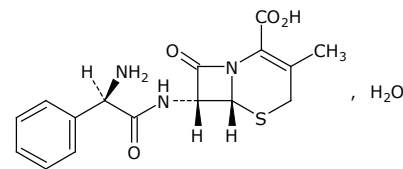
Dalam wadah tertutup baik dan sejuk.

#### Khasiat

Anti-bakteri.

## Sefaleksin Monohidrat

*Cefalexin Monohydrate*



$C_{16}H_{17}N_3O_4S \cdot H_2O$

BM: 365,4

[23325-78-2]

#### Definisi

Sefaleksin monohidrat adalah (6R,7R)-7-[(2R)-2-amino-2-fenilasetil]amino]-3-metil-8-okso-5-tia-1-azabisiklo [4.2.0] oct-2-en-2-asam karboksilat monohidrat. Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 102,0%, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Agak sukar larut dalam air, praktis tidak larut dalam alkohol.

#### Identifikasi

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sefaleksin monohidrat.

**pH.** 4,0—5,5. Larutkan dan encerkan 50 mg dalam air bebas karbondioksida sampai volume 10 ml.

**Rotasi jenis.** +149° sampai +158° (zat anhidrat). Larutkan dan encerkan 0,125 g dalam dapar ftalat pH 4,4 sampai batas volume 25 ml.

**Serapan cahaya.** Larutkan dan encerkan 50 mg dalam air sampai batas volume 100 ml. Serapan cahaya pada panjang gelombang 330 nm tidak lebih besar dari 0,05. Encerkan 2,0 ml larutan dengan air sampai batas volume 50,0 ml. Periksa pada panjang gelombang antara 220 nm dan 300 nm, larutan encer menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 262 nm. Serapan spesifik maksimum adalah 220—245 nm, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50,0 mg zat uji dalam fase gerak A sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar:**

- Larutkan dan encerkan 10 mg d-fenilglisin dalam fase gerak A sampai batas volume 10 ml.
- Larutkan 10 mg standar asam 7-aminodesasetoksisefalosporanat dalam larutan dapar fosfat pH 7,0 dan encerkan sampai volume 10 ml dengan fase gerak A.
- Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dan 1,0 ml larutan standar (b) dengan fase gerak A sampai batas volume 100 ml.
- Larutkan dan encerkan 10 mg dimetilformamida dan 10 mg dimetilasetamida dalam fase gerak A sampai volume 10 ml. Encerkan 1,0 ml dengan fase gerak A sampai batas volume 100 ml.
- Encerkan 1,0 ml larutan standar (c) dengan fase gerak A sampai batas volume 20,0 ml.
- Larutkan dan encerkan 10 mg standar natrium sefotaksim dalam fase gerak A sampai volume 10,0 ml. Pada 1,0 ml larutan tambahkan 1,0 ml larutan uji dan encerkan dengan fase gerak A sampai batas volume 100 ml.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 220 nm.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5 µm, ukuran 10 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak A.** Larutan dapar fosfat pH 5,0.

**Fase gerak B.** Metanol.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0—1	98	2
1—20	98 → 70	2 → 30
20—23	70 → 98	30 → 2
23—30	98	2

**Injek.** 20 µl larutan uji dan larutan standar (c), (d), (e) dan (f).

**Kesesuaian sistem.** Resolusi minimum 2,0 antara puncak ketidakhurnian A dan ketidakhurnian B pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) dan minimum 1,5 antara puncak sefaleksin dan sefotaksim pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (f).

**Batas**

**Ketidakhurnian B.** Tidak lebih dari area puncak kedua pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (1,0%).

**Ketidakhurnian yang lain (abaikan puncak dimetilformamid dan dimetilasetamid).** Tidak lebih dari area puncak pertama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (1,0%).

**Total.** Tidak lebih dari 3 kali area dari puncak pertama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (3,0%).

**Abaikan batas.** Area puncak kedua pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e) (0,05%).

**N,N-Dimetilanilin.** Tidak lebih dari 20 ppm.

**Air.** 4,0%—8,0%. Gunakan 0,3 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,2%. Gunakan 1,0 g.

**Penetapan potensi/kadar**

Potensi ditetapkan dengan salah satu metode berikut.

- Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
- Lakukan penetapan kadar dengan kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50,0 mg zat uji dalam air sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 50,0 mg standar sefaleksin monohidrat dalam air sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan 10 mg standar sefradin dalam 20 ml larutan standar (a) dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5 µm, ukuran 0,25 m x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur metanol, asetonitril, dan kalium dihidrogen fosfat (13,6 g/l dalam air) (2:5:10:83 v/v/v/v).

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

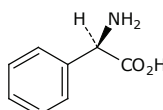
**Injek.** 20 µl.

**Kesesuaian sistem larutan standar (b).** Resolusi minimum 4,0 antara puncak sefaleksin dengan sefradin.

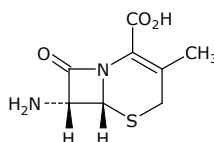
**Penyimpanan**

Dilindungi dari cahaya.

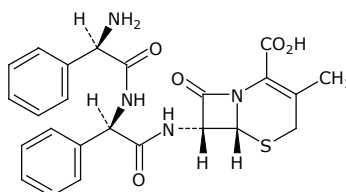
**Ketidakhurnian**



- A. Asam (2R)-2-amino-2-fenilasetat (d-fenilglisina).



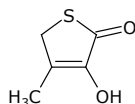
- B. Asam (6R,7R)-7-amino-3-metil-8-okso-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilat (7-amino-desasetoksisefalosporanat, 7-ADCA).



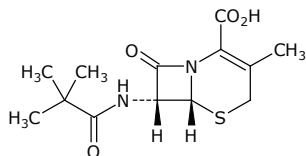
- C. Asam (6R,7R)-7-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-amino-2-fenil



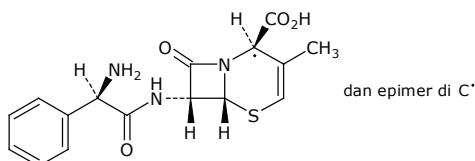
asetil]amino]-2-fenilasetil]amino]-3-metil-8-okso-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilat.



D. 3-hidroksi-4-metiltiofen-2(5H)-on.



E. Asam (6R,7R)-7-[(2,2-dimetilpropanoil)amino]-3-metil-8-okso-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilat(7-ADCA pivalamida).



F. Asam (2RS,6R,7R)-7-[[[(2R)-2-amino-2-fenilasetil]amino]-3-metil-8-okso-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okt-3-en-2-karboksilat(delta-2-sefaleksin).

### Khasiat

Antibiotik

## Sefaleksin Kapsul

### Definisi

Sefaleksin kapsul mengandung sefaleksin monohidrat dalam pembawa yang sesuai.

Kapsul memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan kapsul dan persyaratan berikut.

Mengandung sefaleksin anhidrat,  $C_{16}H_{17}N_3O_4S$  tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

A. Pada sediaan setara dengan 0,5 g sefaleksin anhidrat tambah 1 ml air dan 4 ml asam hidroklorida 1 M, aduk, saring dan bilas hasil saringan dengan 1 ml air. Pada hasil saringan, tambah larutan natrium asetat jenuh sampai terbentuk endapan. Tambah 5 ml metanol, saring, bilas endapan dua kali dengan 1 ml metanol dan keringkan residu dengan tekanan tidak melebihi 0,7 kPa. Spektrum serapan inframerah dari residu sesuai spektrum serapan standar sefaleksin. Simpan residu untuk uji C.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika HF<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Campur 15 volume aseton dan 85 volume amonium asetat 15,4% b/v, atur pH 6,2 dengan asam asetat 5 M.

**Larutan (1).** Larutkan dan encerkan sediaan setara dengan 0,2 g sefaleksin anhidrat dalam 25 ml campuran dengan volume yang sama dari

metanol dan dapar fosfat 0,067 M pH 7,0 sampai batas volume 50 ml, aduk, saring dan gunakan hasil saringan.

**Larutan (2).** Standar sefaleksin 0,4% b/v dalam campuran dengan volume yang sama dari metanol dan dapar fosfat 0,067 M pH 7,0.

**Larutan (3).** Standar sefaleksin 0,4% b/v dan standar sefradin 0,4% b/v dalam campuran dengan volume sama dari metanol dan dapar fosfat 0,067 M pH 7,0.

Totolkan 1  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa di bawah cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak yang diperoleh dengan larutan (2). Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

C. Campur 20 mg residu yang diperoleh dalam uji A dengan 0,25 ml larutan asam asetat glasial 1% v/v dan tambah 0,1 ml larutan tembaga (II) sulfat 1% b/v dan 0,1 ml natrium hidroksida 2 M. Terbentuk warna hijau.

**Disintegrasi.** Waktu maksimum 15 menit. Gunakan asam hidroklorid 0,6% v/v sebagai pengganti air.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika HF.

**Fase gerak.** Campur 3 volume aseton, 80 volume dinatrium hidrogen ortofosfat 7,2% b/v dan 120 volume larutan asam sitrat 2,1% b/v. Celupkan lempeng dengan pengembangan oleh n-tetradekan 5% v/v dalam n-heksan. Biarkan pelarut menguap.

**Larutan (1).** Sediaan, setara 0,25 g sefaleksin anhidrat, tambah 10 ml asam hidroklorida 2 M, aduk, saring dan gunakan hasil saringan.

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan (1) sampai batas volume 100 volume dengan asam hidroklorida 2 M.

**Larutan (3).** Standar asam 7-aminodesasetoksisefalosporanat 0,025% b/v dalam asam hidroklorida 2 M.

**Larutan (4).** Zat DL-fenilglisin 0,025% b/v dalam asam hidroklorida 2 M.

**Larutan (5).** Standar sefaleksin 2,5% b/v dan asam 7-aminodesasetoksi sefalosporanat 0,025% b/v dan DL-fenilglisin 0,025% b/v dalam asam hidroklorida 2 M.

Totolkan 5  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 90°C selama 3 menit. Semprot lempeng panas dengan larutan ninhidrin 0,1% b/v dalam fase gerak, panaskan pada suhu 90°C selama 15 menit dan dinginkan. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan asam 7-aminodesasetoksi sefalosporanat, tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (3) (1%), bercak yang

sesuai dengan DL-fenilglisin dan tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (4) (1%) dan bercak kedua yang lain tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (1%). Uji tidak absah kecuali jika kromatogram yang diperoleh dengan larutan (5) menunjukkan tiga bercak yang terpisah.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan dengan metoda kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Sediaan setara dengan 0,25 g sefaleksin anhidrat, tambah 100 ml air, aduk selama 30 menit, tambah air sampai batas volume 250 ml dan saring. Encerkan 25 ml hasil saringan dengan air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan (2).** Standar sefaleksin 0,05% b/v dalam air.

**Larutan (3).** Standar sefaleksin 0,01% b/v dan standar sefradin 0,01% b/v dalam air.

**Kolom.** Nucleosil C18 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 25 cm  $\times$  4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 2 volume metanol, 5 volume asetonitril, 10 volume larutan kalium dihidrogen ortofosfat 1,36% b/v dan 83 volume air.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Lakukan penyesuaian sensitivitas sehingga tinggi puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) adalah 50% dari skala-penuh. Penetapan kadar tidak absah kecuali jika faktor resolusi antara puncak yang sesuai dengan sefaleksin dan sefradin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) adalah 4; jika diperlukan, lakukan penyesuaian asetonitril dalam fase gerak. Lakukan enam injeksi dari larutan (2); penetapan tidak absah jika simpangan baku relatif untuk area puncak sefaleksin adalah lebih besar dari 1,0%. Injeksi larutan (1) dan (2) secara berurutan dan hitung kadar sefaleksin.

#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

### Sefaleksin Suspensi Oral

#### Definisi

Sefaleksin suspensi oral adalah suspensi sefaleksin monohidrat dalam pembawa yang sesuai.

Suspensi oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan suspensi oral dan persyaratan berikut.

Mengandung sefaleksin anhidrat,  $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$  tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

- A. Memenuhi uji B yang diuraikan dalam sefaleksin kapsul, dengan menggunakan larutan (1): Sediaan setara dengan 0,2 g sefaleksin anhidrat, tambah 70 ml metanol, aduk dan saring. Uapkan hasil saringan sampai kering menggunakan rotapavor. Larutkan residu dalam asam hidroklorida 0,5 M sampai batas volume 50 ml.
- B. Sediaan setara dengan 0,1 g sefaleksin anhidrat, tambah 70 ml metanol, aduk, saring dan uapkan sampai kering menggunakan rotapavor. Larutkan residu dengan sedikit asam asetat glasial 1% b/v, jika perlu, hilangkan warna dengan penambahan yang cukup dari arang aktif, aduk dan saring. Pada 0,25 ml hasil saringan tambah 0,1 ml larutan tembaga(II) sulfat 1% b/v dan 0,05 ml natrium hidroksida 2 M. Terbentuk warna hijau.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam sefaleksin kapsul menggunakan larutan (1): Sediaan setara dengan 0,25 g sefaleksin anhidrat, tambah 100 ml air, aduk selama 30 menit, tambah air sampai batas volume 250 ml dan saring. Encerkan 25 ml hasil saringan dengan air sampai batas volume 50 ml.

#### Penyimpanan

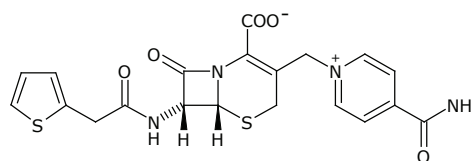
Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

### Sefalonium

#### Cefalonium



$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

BM: 494,5

[5575-21-3]

#### Definisi

Sefalonium adalah 3-(4-karbamoil-1-piridinometil)-7-(2-tienilasetamido)-3-sefem-4-karboksilat dihidrat.

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 103,5% dari  $C_{20}H_{18}N_4O_5S_2 \cdot 2H_2O$ , dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air dan metanol; larut dalam dimetilsulfoksida; tidak larut dalam diklorometan, etanol (96%) dan eter. Larut dalam alkali dan asam encer.

### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sefalonium.
- Serapan cahaya, pada panjang gelombang 220—350 nm dari larutan 0,002% b/v dalam air, menunjukkan dua maksimum, pada panjang gelombang 235 nm dan 262 nm, dengan nilai 0,76 dan 0,62.

**Rotasi jenis.** Larutkan 0,25 g dalam dimetilsulfoksida sampai batas volume 50 ml dan panaskan. Biarkan selama 30 menit sebelum pengukuran rotasi jenis. Rotasi jenis adalah  $-50^\circ$  sampai  $-56^\circ$ , dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metoda kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel  $F_{254}$ .

**Fase gerak.** Campur 10 volume asam asetat glasial, 10 volume natrium asetat 1 M dan 30 volume propan-2-ol.

**Larutan (1).** Zat uji 2,5% b/v dalam asam asetat 8,3 M.

**Larutan (2).** Zat uji 0,05% b/v dalam asam asetat 8,3 M.

**Larutan (3).** Zat uji 0,025% b/v dalam asam asetat 8,3 M.

**Larutan (4).** Zat uji 0,005% b/v dalam asam asetat 8,3 M.

**Larutan (5).** Standar sefalotin natrium dan isonikotinamida 0,05% b/v dalam asam asetat 8,3 M.

Totolkan 4  $\mu$ l secara terpisah dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm).

Bercak kedua pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (2%), tidak lebih kuat intensitasnya dari satu bercak yang diperoleh dengan larutan (3) (1%) dan tidak lebih kuat dari tiga bercak yang diperoleh dengan larutan (4) (0,2%).

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (5) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,2%.

**Air.** 6,5%—8,5% b/b. Gunakan 0,5 g.

### Penetapan potensi/kadar

Potensi ditetapkan dengan salah satu metode berikut.

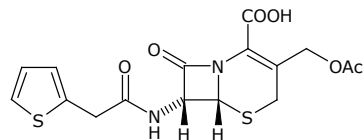
- Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

- Lakukan dengan metode spektrofotometer pada panjang gelombang 262 nm menggunakan larutan 0,002% b/v.

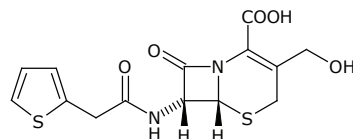
### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

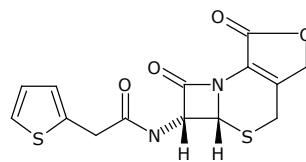
### Ketidakmurnian



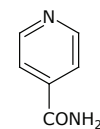
- Sefalotin.



- Asam 3-hidroksimetil-7 $\beta$ -(2-tienilasetamido)-3-sefem-4-karbosiklat.



- Asam 3-hidroksimetil-7 $\beta$ -(2-tienilasetamido)-3-sefem-4-karbosiklat laktona.



- Isonikotinamida.

### Khasiat

Antibiotik.

## Sefalonium Infus Intramamari

### Definisi

Sefalonium infus intramamari adalah suspensi steril dari sefalonium dalam pembawa yang sesuai.

Infus intramamari memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan infus intramamari dan persyaratan berikut.

Mengandung sefalonium anhidrat,  $C_{20}H_{18}N_4O_5S_2$  tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

- Pada penetapan potensi/kadar, waktu tambat puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2).
- Pada sediaan setara dengan 20 mg sefalonium anhidrat, tambah beberapa tetes asam sulfat (80% v/v) yang mengandung asam nitrat 1% v/v dan aduk. Terbentuk warna hijau pucat yang dengan segera berubah menjadi hijau gelap.

**Senyawa sejenis.** Memenuhi uji yang diuraikan dalam sefalonium salep mata menggunakan larutan (1): Dispersikan sediaan setara dengan 0,10 g sefalonium anhidrat dalam 50 ml petroleum benzin (titik didih, 60°–80°C), tambah 100 ml asam hidroklorida 0,1 M dan kocok dengan kuat selama 35 menit, saring dan gunakan lapisan bawah.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan larutan:

**Larutan (1).** Dispersikan sediaan setara dengan 75 mg sefalonium anhidrat dalam 50 ml petroleum benzin (titik didih 60°–80°C), tambah 100 ml asam hidroklorida 0,1 M dan kocok dengan kuat selama 35 menit. Saring lapisan bawah dan encerkan 10 ml hasil saringan dengan asam hidroklorida 0,1 M sampai volume 100 ml.

**Larutan (2).** Standar sefalonium 0,0075% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Kolom.** Spherisorb S5 C6, ukuran 10 cm × 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Fase gerak.** Campur 3 volume asetonitril dan 97 volume larutan (berisi 5 volume natrium asetat 0,1 M pH 3,4) dan 95 volume asam asetat 0,1 M.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 262 nm.

**Injek.** 10 µl dari setiap larutan.

#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Sefalonium Salep Mata

#### Definisi

Sefalonium salep mata adalah sediaan steril mengandung sefalonium dalam pembawa yang sesuai. Salep mata memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan salep mata dan persyaratan berikut.

Mengandung sefalonium anhidrat, C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub> tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

A. Pada penetapan kadar, waktu tambat puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan puncak utama yang diperoleh dengan larutan (2).

B. Pada sediaan salep mata setara dengan 20 mg sefalonium anhidrat, tambah beberapa tetes asam sulfat (80% v/v) yang mengandung asam nitrat 1% v/v dan aduk. Terbentuk warna hijau pucat yang dengan segera berubah menjadi hijau gelap.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Dispersikan sediaan setara dengan 0,10 g sefalonium anhidrat dalam 50 ml petroleum benzin (titik didih 60°–80°C), tambah 100 ml asam hidroklorida 0,1 M dan kocok selama 35 menit, saring dan gunakan lapisan bawah.

**Larutan (2).** Encerkan 2 volume larutan (1) dengan asam hidroklorida 0,1 M sampai 100 volume.

**Larutan (3).** Zat isonikotinamid 0,0020% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Larutan (4).** Standar sefalonium 0,0050% b/v dan isonikotinamid 0,0050% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Kolom.** Spherisorb S5 C6, 10 cm × 4,6 mm.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Fase gerak.** Campur 3 volume asetonitril, 97 volume larutan (berisi 5 volume natrium asetat 0,1 M pH 3,4) dan 95 volume asam asetat 0,1 M.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 262 nm.

**Injek.** 10 µl dari setiap larutan.

Untuk larutan (1), biarkan proses kromatografi adalah 3,5 kali waktu tambat puncak utama. Uji tidak absah, kecuali jika kromatogram yang diperoleh dengan larutan (4) faktor resolusi antara kedua puncak utama adalah 10. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) area puncak apapun sesuai dengan isonikotinamida, tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) (2%) dan area puncak kedua yang lain tidak lebih besar dari setengah area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (1%).

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Dispersikan sediaan setara dengan 75 mg sefalonium anhidrat dalam 50 ml petroleum benzin (titik didih 60°–80°C), tambah 100 ml asam hidroklorida 0,1 M dan aduk selama 35 menit. Saring lapisan bawah dan encerkan 10 ml hasil saringan dengan asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 100 ml.

**Larutan (2).** Standar sefalonium 0,0075% b/v dalam asam hidroklorida 0,1 M.

**Kolom.** Spherisorb S5 C6, ukuran 10 cm × 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Fase gerak.** Campur 3 volume asetonitril, 97 volume larutan (mengandung 5 volume natrium asetat 0,1 M pH 3,4) dan 95 volume asam asetat 0,1 M.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 262 nm.

**Injek.** 10 µl dari setiap larutan.

### Penyimpanan

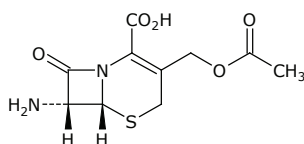
Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Sefalotin Natrium

*Cefalotin Sodium*



$C_{16}H_{15}N_2NaO_6S_2$

BM: 418,4

[58-71-9]

### Definisi

Sefalotin natrium adalah (6R,7R)-3-[(asetiloksi)metil]-8-okso-7-[(tiofen-2-ilaseyil)amino]-5-tia-1-azabicyklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilat.

Mengandung tidak kurang 96,0% dan tidak lebih dari 102,0%, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, sukar larut dalam etanol anhidrat.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sefalotin natrium.

B. Memberikan reaksi natrium.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,50 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 25,0 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan serapan maksimum pada panjang gelombang 450 nm adalah 0,20.

**pH.** Larutan S 4,5—7,0.

**Rotasi jenis.** Antara +124° sampai +134° (zat anhidrat). Larutkan dan encerkan 1,25 g dalam air sampai batas volume 25,0 ml.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 75,0 mg zat uji dalam air sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 5,0 ml larutan uji (a) dengan air sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 15,0 mg standar sefalotin natrium dalam air sampai volume 5,0 ml. Encerkan 5,0 ml dengan air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Campuran 1 ml larutan uji (a), 1 ml asam hidroklorida dan 8 ml air. Panaskan pada suhu 60°C selama 12 menit dan dinginkan sampai suhu kamar menggunakan es dan segera gunakan.

**Larutan standar (d).** Larutkan dan encerkan 5 mg standar sefalotin dalam air sampai volume 5 ml untuk uji identifikasi ketidakh murnian B.

**Kolom.** End-capped silika gel oktadesilsilil 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 40°C.

**Fase gerak A.** Campur 3 volume asetonitril dan 97 volume dikalium hidrogen fosfat 1,742 g/l, atur pH 2,5 dengan asam fosfat.

**Fase gerak B.** Campur 40 volume asetonitril dan 60 volume dikalium hidrogen fosfat 1,742 g/l, atur pH 2,5 dengan asam fosfat.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0—30	100 → 0	0 → 100
30—35	0	100
35—36	0 → 100	100 → 0
36—41	100	0

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 220 nm.

**Injek.** 20 µl larutan uji (a) dan larutan standar (b), (c), (d).

**Waktu tambat relatif.** Standar sefalotin sekitar 26 menit, ketidakh murnian C sekitar 0,2, ketidakh murnian B sekitar 0,7, ketidakh murnian A sekitar 0,8, ketidakh murnian D sekitar 0,9.

**Kesesuaian sistem larutan standar (c).** Resolusi minimum 7,0 antara puncak ketidakh murnian D dan sefalotin.

**Batas.** Ketidakh murnian B tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,0%), ketidakh murnian D tidak lebih dari 0,5 kali area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%), ketidakh murnian lain untuk setiap ketidakh murnian, tidak lebih dari 0,25 kali area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,25%).

**Total.** Tidak lebih dari 3 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (3,0%).

**Abaikan batas.** 0,05 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%).

**N,N-Dimetilanilin.** Tidak lebih dari 20 ppm.

**Asam 2-Etilheksanoat.** Tidak lebih dari 0,5%.

**Air.** Tidak lebih dari 1,5%. Gunakan 0,5 g.

**Endotoksin bakteri.** Kurang dari 0,13 IU/mg, jika digunakan untuk parenteral.

### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut.

1. Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan dengan cara kromatografi cair seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis menggunakan:

**Fase gerak.** Campur 14 volume asetonitril dan 86 volume dikalium hidrogen fosfat 6,967 g/l atur pH 6,0 dengan asam fosfat.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 260 nm.

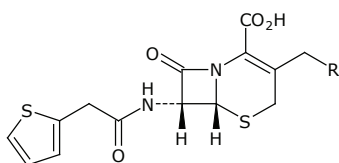
**Injek.** 5 µl larutan uji (b) dan larutan standar (a).

**Waktu uji.** 1,5 kali waktu tambat sefalotin sekitar 10 menit.

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya, steril dan kedap udara.

### Ketidakhurnian



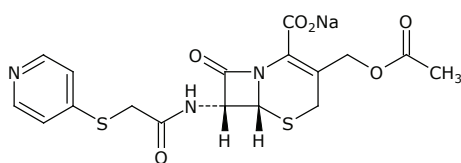
- A. R = H: Asam (6R,7R)-3-metil-8-okso-7-[(tiofen-2-il asetil)amino]-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilat (deasetoksisefalotin).
- B. R = OH: Asam (6R,7R)-3-(hidroksimetil)-8-okso-7-[(tiofen-2-il asetil)amino]-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilat (deasetilsefalotin).
- C. Asam (6R,7R)-3-[(asetiloksi)metil]-7-amino-8-okso-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilat (7-ACA).
- D. (5aR,6R)-6-[(tiofen-2-il asetil)amino]-5a,6-dihidro-3H,7H-azeto[2,1-b]furo[3,4-d][1,3]tiazin-1,7(4H)-dion(sefalotin laktone).

### Khasiat

Antibiotik.

## Sefapirin Natrium

*Cefapirin Sodium*



$C_{17}H_{16}N_3NaO_6S_2$

BM: 445,5

[24356-60-3]

### Definisi

Sefapirin natrium adalah (6R,7R)-3-[(asetiloksi)metil]-8-okso-7-[[[(piridin-4-il)sulfanil]asetil]amino]-5-tia-

1-azabisiklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilat. Mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 102,0%, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kuning pucat.

**Kelarutan.** Larut dalam air, praktis tidak larut dalam metilen klorida.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sefapirin natrium.

B. Memberikan reaksi sodium.

**Kejernihan larutan.** Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air sampai volume 10,0 ml. Larutan jernih. Encerkan 5,0 ml dengan air sampai volume 10,0 ml. Serapan larutan pada panjang gelombang 450 nm adalah 0,25.

**pH.** 6,5—8,5. Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 10,0 ml.

**Rotasi jenis.** Antara +150° sampai +165° (zat anhidrat). Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam air sampai batas volume 25,0 ml.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 42 mg zat uji dalam fase gerak sampai batas volume 200,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 42 mg standar sefapirin natrium dengan fase gerak sampai batas volume 200,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (b) dengan fase gerak sampai batas volume 20,0 ml.

**Larutan standar (d).** Campur 1 ml larutan uji, 8 ml fase gerak dan 1 ml asam hidroklorida. Panaskan pada suhu 60°C selama 10 menit.

**Kolom.** ODS 10 µm, ukuran 30 cm x 4 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 80 ml dimetilformamida, 4,0 ml asam asetat glasial dan 20 ml larutan kalium hidroksida 4,5% (b/b). Encerkan dengan air sampai volume 2 liter.

**Laju alir.** 2,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek.** 20 µl larutan uji dan larutan standar (b), (c), (d).

**Waktu uji.** 2 kali lebih waktu tambat sefapirin. Waktu tambat relatif sefapirin sekitar 13 menit, ketidakhurnian B sekitar 0,3, ketidakhurnian C sekitar 0,5, ketidakhurnian A sekitar 0,75.

**Kesesuaian sistem larutan standar (d).** Resolusi minimum 2,0 antara puncak sefapirin dan ketidakhurnian A.

**Batas.** Ketidakhurnian lain untuk setiap ketidakhurnian, tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar

(b) (1,0%), dan tidak lebih dari 1 puncak mempunyai area lebih besar dari 0,3 kali area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,3%).

**Total.** Tidak lebih dari dua kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (2,0%).

**Abaikan batas.** Area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,05%).

**N,N-Dimetilanilin.** Tidak lebih dari 20 ppm.

**Asam 2-Etilheksanoat.** Tidak lebih dari 0,5%.

**Air.** Tidak lebih dari 2,0%. Gunakan 0,3 g.

**Endotoksin bakteri.** Kurang dari 0,17 IU/mg, jika untuk parenteral.

### Penetapan potensi/kadar

Potensi ditetapkan dengan salah satu metode berikut.

1. Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis, menggunakan larutan uji dan larutan standar (a).

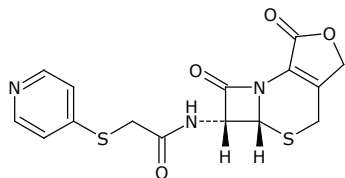
### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

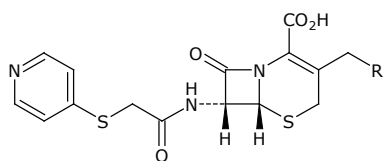
### Penandaan

Bebas dari endotoksin bakteri.

### Ketidakhurnian



- A. (5aR,6R)-6-[[[(piridin-4-il)sulfanil]asetil]amino]-5a,6-dihidro-3H,7H-azeto[2,1-b]furo[3,4-d][1,3]tiazine-1,7(4H)-dion (deasetilsfepirin laktone).



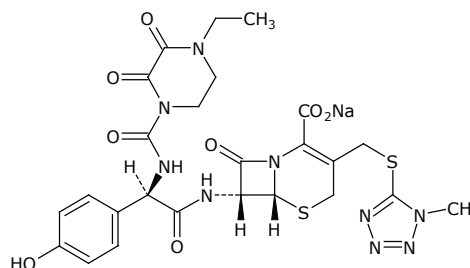
- B. R = OH: Asam (6R,7R)-3-(hidroksimetil)-8-okso-7-[[[(piridin-4-il)sulfanil]asetil]amino]-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okta-2-en-2-karboksilat (deasetilsfepirin).
- C. R = H: Asam (6R,7R)-3-metil-8-okso-7-[[[(piridin-4-il)sulfanil]asetil]amino]-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okta-2-en-2-karboksilat (deasetoksifepirin).

### Khasiat

Antibiotik

## Sefoperazon Natrium

*Cefoperazone Sodium*



$C_{25}H_{26}N_9NaO_8S_2$

BM: 668

[62893-19-0]

### Definisi

Sefoperazon natrium mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 102,0% dari natrium (6R,7R)-7-[[[(2R)-2-[[[(4-etil-2,3-dioksopiperazin-1-il)karbonil]amino]-2-(4-hidroksifenil)asetil]amino]-3-[[[(1-metil-1H-tetrazol-5-il)sulfanil]metil]-8-okso-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okta-2-en-2-karboksilat, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau sedikit kuning, higroskopik.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, larut dalam metanol, sukar larut dalam alkohol. Jika bentuk kristal, terlihat polimorfism.

### Identifikasi

- A. Larutkan zat uji dalam metanol dan uapkan sampai kering.

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sefoperazon natrium.

- B. Pemeriksaan kromatografi yang diperoleh dalam penetapan potensi/kadar. Waktu tambat dan ukuran puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a) sama dengan puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

- C. Memberikan reaksi natrium

**Kejernihan larutan.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air sampai batas volume 25,0 ml. Larutan jernih. Serapan pada panjang gelombang 430 nm, sekitar 0,15.

**pH.** 4,5—6,5. Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air bebas karbon dioksida sampai 10 ml.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera pada penetapan potensi/kadar. Injek 20  $\mu$ l larutan standar (b). lakukan penyesuaian sensitivitas sehingga tinggi puncak utama pada kromatogram yang diperoleh adalah 50% dari skala-penuh. Injek 20  $\mu$ l larutan uji (b). Lanjutkan untuk sedikitnya 2,5 kali waktu tambat puncak utama. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b), area puncak yang merupakan bagian dari puncak utama, tidak lebih besar dari 1,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,5%), jumlah area dari beberapa puncak tidak lebih besar dari 4,5 kali area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b) (4,5%). Abaikan

puncak dengan area kurang dari 0,1 kali area puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b).

**Aseton.** Tidak lebih dari 2,0%. Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,5 g zat uji dalam air sampai 10,0 ml.

**Pelarut.** Larutkan dan encerkan 0,350 g aseton dalam air sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 10,0 ml larutan sampai dengan air batas volume 100,0 ml.

Siapkan masing-masing 4 botol kecil injeksi seperti dalam tabel di bawah ini

Vial No.	Larutan uji (ml)	Pelarut (ml)	Air (ml)
1	1,0	0	4,0
2	1,0	1,0	3,0
3	1,0	2,0	2,0
4	1,0	3,0	1,0

Prosedur kromatografi menggunakan sistem B pada uji residu pelarut dan kondisi ruang injeksi berikut:

**Waktu ekuilibrasi.** 15 menit.

**Suhu pemindahan garis.** 110°C.

**Suhu kolom.** 40°C selama 10 menit.

**Logam berat.** Pada 2,0 g memenuhi uji batas logam berat (5 ppm). Gunakan 1 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Air.** Tidak lebih dari 5,0%. Gunakan 0,20 g.

**Endotoksin bakteri.** Kurang dari 0,20 IU/mg, jika digunakan untuk parenteral.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan kadar/potensi dengan salah satu metode berikut.

- Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 25,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai batas volume 250,0 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan dan encerkan 25,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 25,0 mg standar sefoperazon dihidrat dalam fase gerak sampai batas volume 250,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5,0 ml larutan standar (a) dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** ODS 5 µm, ukuran 15 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Fase gerak.** Campur 884 volume air; 110 volume asetonitril; 3,5 volume asam asetat (60 g/l); 2,5

volume trietilamonium asetat (encerkan 14 ml trietilamin dan 5,7 ml asam asetat glasial dan tambahkan air sampai batas volume 100 ml).

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek.** 20 µl dari larutan standar (a).

Waktu tambat sekitar 15 menit untuk sefoperazon. Lakukan penyesuaian sensitivitas sistem sehingga tinggi puncak utama pada kromatogram yang diperoleh adalah 50% dari skala-penuh perekam. Uji tidak absah kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a), jumlah plat teoritis yang dihitung untuk puncak utama adalah 5000 dan faktor simetri adalah paling banyak 1,6. Jika diperlukan, lakukan penyesuaian isi dari asetonitril dalam fase gerak. Injek larutan standar (a) 6 kali. Uji tidak absah kecuali jika simpangan baku relatif dari area puncak adalah paling banyak 1,0%. Injek secara berurutan larutan uji (a) dan larutan standar (a).

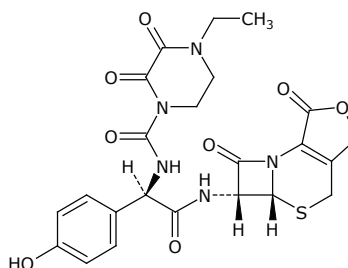
#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya, suhu 2°–8°C. Steril.

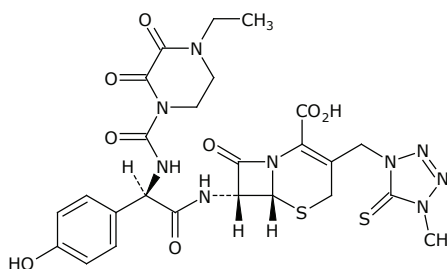
#### Penandaan

Bebas dari endotoksins bakteri.

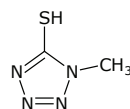
#### Ketidakhurnian



- A. (5aR,6R)-6-[[[(2R)-2-[[[(4-ethyl-2,3-dioxopiperazin-1-il)karbonil]amino]-2-(4-hidroksifenil)asetil]amino]-5a,6-dihidro-3H,7H-azeto[2,1-b]furo[3,4-d][1,3]tiazin-1,7(4H)-dion.

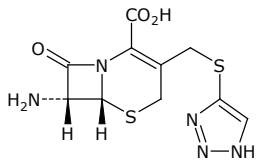


- B. Asam (6R,7R)-7-[[[(2R)-2-[[[(4-etil-2,3-dioxopiperazin-1-il)karbonil]amino]-2-(4-4,5-dihidro-1H-tetrazol-1-il)metil]-8-okso-5-tia-1-azabiosiklo[4.2.0]okt-2-en-2-karbosiklat.

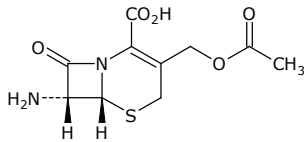


- C. 1-metil-1H-tetrazol-5-tiol.

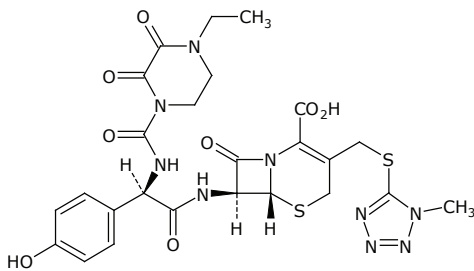




- D. Asam (6R,7R)-7-amino-8-okso-3-[(1H-1,2,3-triazol-4-il-sulfanil)metil]-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilat (7-TACA).



- E. Asam (6R,7R)-3-[(asetiloksi)metil]-7-amino-8-okso-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilat (7-ACA).



- F. Asam (6R,7S)-7-[[[(2R)-2-[[[(4-etil-2,3-dioksopiperazin-1-il)karbonil]amino]-2-(4-hidroksifenil)asetil]amino]-3-[[[(1-metil-1H-tetrazol-5-il)sulfanil]metil]-8-okso-5-tia-1-azabisiklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboksilat.

### Khasiat

Antibiotik.

## Serum Gonadotrofin

### Gonadotrophin Serum

### Definisi

Serum gonadotrofin adalah sediaan kering dari fraksi glikoprotein yang diperoleh dari serum atau plasma kuda betina bunting.

Mengandung aktivitas *follicle stimulating* dan *lutening*. Potensi tidak kurang dari 1.000 IU/mg aktivitas gonadotrofin, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk amorf, putih atau abu-abu.

**Kelarutan.** Larut dalam air.

### Identifikasi

Lakukan untuk penetapan kadar, menyebabkan peningkatan berat ovarium tikus yang belum dewasa.

**Air.** Tidak lebih dari 10,0%. Gunakan 80 mg.

**Endotoksin bakteri.** Kurang dari 0,035 IU setiap IU serum gonadotrofin kuda.

### Penetapan kadar

Potensi dari serum gonadotrofin kuda dihitung dengan cara membandingkan berat ovarium tikus belum dewasa yang diperlakukan dengan serum gonadotrofin sediaan uji dan standar yang dinyatakan dalam *International Unit* (WHO). Gunakan tikus betina yang belum dewasa, umur 21—28 hari, dan mempunyai perbedaan berat antara paling berat dan paling ringan tidak lebih dari 10 g. Pisahkan secara acak menjadi 6 kelompok, masing-masing 5 ekor. Pilih 3 dosis dari standar dan 3 dosis sediaan uji. Dosis terendah masih memberikan respon positif dan dosis tertinggi tidak memberikan respon maksimum pada tikus uji. Gunakan dosis secara progres geometris: sebagai perkiraan total dosis 8 IU, 12 IU dan 18 IU, walaupun dosis akan tergantung pada sensitivitas tikus yang digunakan dan dapat bervariasi.

Larutkan dan encerkan secara terpisah sediaan dan standar, dengan natrium klorida steril (9 g/l) yang mengandung 1 mg/ml bovin albumin, jika di injekt mengandung 0,2 ml. Simpan pada suhu  $5 \pm 3^\circ\text{C}$ . Injeksi secara subkutan ke setiap tikus sesuai dengan dosis dan kelompok. Ulangi pada 18 jam, 21 jam, 24 jam, 42 jam dan 48 jam setelah injeksi pertama. Tidak kurang dari 40 jam dan tidak lebih dari 72 jam setelah injeksi terakhir, bunuh tikus dan ambil ovariumnya. Hilangkan cairan dan jaringan yang lain dan segera timbang berat 2 ovarium. Hitung dengan metode statistik, menggunakan berat 2 ovarium sebagai respon tikus.

Potensi tidak kurang dari 80,0% dan tidak lebih dari 125,0% dari yang tertera dalam label. Batas kepercayaan ( $P = 0,95$ ) potensi tidak kurang dari 64,0% dan tidak lebih dari 156,0% dari potensi yang tertera dalam label.

### Penyimpanan

Kedap udara, dilindungi dari cahaya, suhu tidak melebihi  $8^\circ\text{C}$ . Steril.

### Penandaan

Dinyatakan potensi dalam *International Units* setiap miligram, bebas dari endotoksin bakteri.

### Khasiat

Hormon gonadotrofik.

## Serum Gonadotrofin Injeksi

### Definisi

Serum gonadotrofin injeksi adalah larutan steril dari serum gonadotrofin dalam air untuk injeksi atau dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan sebagai berikut.

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang dinyatakan dalam etiket.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk amorf putih atau keabuan.

**Kelarutan.** Larut dalam air.

**Identifikasi**

Menyebabkan terjadinya pembesaran ovarium dari tikus betina yang belum dewasa.

**Kejernihan larutan.** Larutan yang mengandung 5.000 IU/ml adalah jernih dan tidak berwarna.

**Keasaman-kebasaan.** pH 6,0—8,0.

**Air.** Tidak lebih dari 10% b/b. Gunakan 80 mg.

**Endotoksin bakteri.** Lakukan uji untuk endotoksin bakteri terhadap larutan yang mengandung 1.000 IU/ml serum gonadotropin (larutan A). Batas endotoksin larutan adalah 35 IU/ml endotoksin.

**Penetapan kadar**

Lakukan penetapan kadar seperti dalam serum gonadotropin.

**Penyimpanan**

Disimpan pada suhu tidak melebihi 8°C.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Serum Korionik Gonadotropin Injeksi****Definisi**

Korionik gonadotropin injeksi adalah larutan steril korionik gonadotropin dalam air untuk injeksi atau dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk amorf putih atau hampir putih.

**Identifikasi**

Menyebabkan peningkatan dalam berat *seminal vesicles* atau kelenjar prostat tikus jantan belum dewasa yang diberikan sesuai dengan yang diuraikan dalam.

**Penetapan potensi/kadar**

**Keasaman-kebasaan.** pH larutan 1,0% b/v, 6,0—8,0.

**Kejernihan larutan.** Larutan 1,0% b/v adalah jernih dan tidak berwarna.

**Endotoksin bakteri.** Lakukan dengan metode uji endotoksin bakteri. Larutkan isi kontainer dalam air sampai menghasilkan larutan mengandung 500 IU/ml korionik gonadotropin (larutan A). Batas endotoksin dari larutan A adalah 15 IU/ml endotoksin.

**Penetapan potensi/kadar**

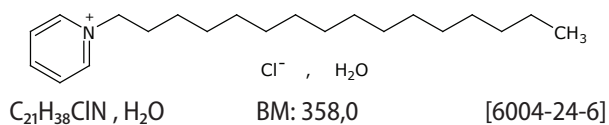
Lakukan penetapan potensi/kadar seperti dalam korionik gonadotropin.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Setilpiridinium Klorida**

*Cetylpyridinium Chloride*

**Definisi**

Setilpiridinium klorida mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari 1-heksa-desilpiridinium klorida, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk putih, pada sentuhan sedikit berbusa.

**Kelarutan.** Larut dalam air dan alkohol.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: B, D.

Identifikasi kedua: A, C, D.

A. Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam air sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 5,0 ml larutan dengan air sampai batas volume 100,0 ml. Periksa pada panjang gelombang 240 nm dan 300 nm, larutan menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 259 nm dan 2 bahu pada panjang gelombang 254 nm—265 nm. Serapan spesifik maksimum 126—134, dihitung terhadap zat anhidrat.

B. Spektrum serapan inframerah sama dengan spektrum serapan standar setilpiridinium klorida.

C. Pada 5 ml larutan natrium hidroksida encer, tambah 0,1 ml bromofenol biru, 5 ml kloroform, dan kocok. Lapisan kloroform tidak berwarna. Tambah 0,1 ml larutan S dan kocok. Terbentuk lapisan kloroform biru.

D. Larutan S memberikan reaksi klorida.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 100 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S tidak lebih opalesen dibandingkan standar II dan tidak berwarna.

**Keasaman.** Pada 50 ml larutan S, tambah 0,1 ml larutan fenoltalein. Tidak lebih dari 2,5 ml natrium hidroksida 0,02 M yang diperlukan untuk mengubah warna indikator.

**Amina dan garam amina.** Larutkan 5,0 g dalam 20 ml campuran 3 volume asam hidroklorida 1 M dan 97 volume metanol, sambil dipanaskan. Tambah 100 ml 2-propanol, lewatkan aliran gas nitrogen secara pelan-pelan melalui larutan. Secara bertahap, tambah 12,0 ml tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M dan catat titrasi kurva potensiometrik. Jika kurva menunjukkan 2 titik infleksi, volume penitar yang ditambahkan antara kedua titik tidak lebih besar dari 5,0 ml. Jika kurva tidak menunjukkan titik infleksi, zat uji tidak memenuhi syarat. Jika kurva menunjukkan satu titik

infleksi, ulangi uji tetapi dengan penambahan 3,0 ml dimetildesilamin (25,0 g/l) dalam 2-propanol sebelum titrasi. Jika kurva titrasi setelah penambahan 12,0 ml penitar menunjukkan hanya satu titik infleksi, zat uji tidak memenuhi syarat.

**Air.** 4,5%—5,5%. Gunakan 0,3 g.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,2%. Keringkan dengan suhu 105°C. Gunakan 1,0 g.

#### Penetapan kadar

Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air sampai batas volume 100,0 ml. Pindahkan 25,0 ml larutan ke dalam labu pisah, tambah 25 ml kloroform, 10 ml natrium hidroksida 0,1 M dan 10,0 ml kalium iodida (50 g/l). Kocok dan buang lapisan kloroform. Kocok tiga kali lapisan air dengan 10 ml kloroform dan buang lapisan kloroform. Pada lapisan air, tambah 40 ml asam hidroklorida, dinginkan dan titrasi dengan kalium iodat 0,05 M sampai terbentuk warna coklat tua hilang. Tambah 2 ml kloroform dan lanjutkan titrasi, kocok dengan kuat, sampai lapisan kloroform tidak berubah warna. Lakukan titrasi blanko dalam campuran 10,0 ml kalium iodida (50 g/l). 20 ml air dan 40 ml asam hidroklorida. Setiap ml kalium iodat 0,05 M setara dengan 34,0 mg  $C_{21}H_{38}ClN$ .

#### Khasiat

Antiseptik deterjen.

### Setilpiridinium Klorida Larutan

#### Definisi

Setilpiridinium klorida larutan mengandung setilpiridinium klorida dalam pembawa yang sesuai.

Larutan memenuhi persyaratan untuk sediaan larutan dan persyaratan berikut.

Mengandung setilpiridinium klorida tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

- Pada 10 ml larutan 0,02%, tambah 3 ml kalium heksasianoferat (III). Terbentuk endapan kuning.
- Pada 1 ml larutan 2%, tambah 1 ml larutan kalium tiosianat. Terbentuk gelatin putih.
- Spektrum serapan ultraviolet larutan 0,05% pada 258 nm adalah 1,2.

#### Penetapan kadar

Lakukan penetapan seperti tertera pada penetapan kadar setrimid. Setiap ml natrium tiosulfat 0,1 M setara dengan 35,8 mg setilpiridinium klorida.

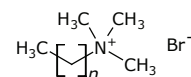
#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

### Setrimid Cetrimide



#### Definisi

Setrimid terdiri dari trimetiltetradesilamonium bromida dan dapat mengandung dodesil dan heksadesil-trimetilamonium bromida.

Mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari alkiltrimetilamonium bromida, dihitung sebagai  $C_{17}H_{38}BrN$  (BM 336,4), dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih.

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

#### Identifikasi

- Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam alkohol sampai batas volume 25,0 ml.
- Serapan maksimum pada panjang gelombang 260—280 nm adalah 0,05.
- Larutkan 5 mg dalam 5 ml dapar pH 8,0. Tambah 10 mg kalium besi (III) sianida. Terbentuk endapan kuning. Siapkan larutan blanko. Terbentuk larutan kuning tetapi tidak terbentuk endapan.
- Larutan S berbuih jika dikocok.
- Lakukan dengan metode kroamtografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,10 g zat uji dalam air sampai volume 5 ml.

**Larutan standar.** Larutkan 0,10 g standar trimetiltetradesilamonium bromida dalam air sampai volume 5 ml.

**Lempeng.** Silika gel  $F_{254}$  atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur aseton, natrium asetat (270 g/l) dan metanol (20:35:45 v/v/v).

Totolkan 1  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara panas. Dinginkan, semprot dengan uap iodium. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji adalah sama pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar.

- Memberikan reaksi bromida.

**Larutan S.** Larutkan 2,0 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 100 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak berwarna.

**Keasaman atau kebasaan.** Pada 50 ml larutan S, tambah 0,1 ml larutan ungu bromokresol. Tidak lebih dari 0,1 ml asam hidroklorida 0,1 M atau natrium

hidroksida 0,1 M yang diperlukan untuk mengubah warna indikator.

**Amina dan garam amina.** Larutkan 5,0 g dalam 30 ml campuran 1 volume asam hidroklorida 1 M dan 99 volume metanol, tambah 100 ml 2-propanol. Alirkan gas nitrogen pada larutan, tambah 15,0 ml tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M dan titrasi potensiometrik. Jika kurva menunjukkan 2 titik infleksi, volume penitar yang ditambahkan antara 2 titik tidak lebih besar dari 2,0 ml.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 2,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,5%.

#### Penetapan kadar

Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air sampai batas volume 100,0 ml. Pindahkan 25,0 ml larutan ke dalam labu pisah, tambah 25 ml kloroform, 10 ml natrium hidroksida 0,1 M dan 10,0 ml kalium iodida (50 g/l, yang baru saja disiapkan). Kocok, biarkan sampai terpisah dan buang lapisan kloroform. Kocok 3 kali lapisan air, masing-masing dengan 10 ml kloroform dan buang lapisan kloroform. Tambah 40 ml asam hidroklorida, dinginkan dan titrasi dengan kalium iodat 0,05 M sampai warna coklat tua hilang. Tambah 2 ml kloroform dan lanjutkan titrasi sampai tidak berwarna. Lakukan titrasi blanko. Setiap ml kalium iodat 0,05 M setara dengan 33,64 mg  $C_{17}H_{38}BrN$ .

#### Khasiat

Antiseptik deterjen.

### Setrimid Larutan

#### Definisi

Setrimid larutan mengandung setrimid dalam pembawa yang sesuai.

Larutan memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan larutan dan persyaratan berikut.

Mengandung setrimid tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

- Pada 10 ml sediaan, tambah 2 ml larutan 5% kalium heksasianoferat. Terbentuk endapan kuning.
- Kocok 2 ml sediaan dengan 5 ml air, 1 ml asam sulfat 1 M, 2 ml kloroform dan 0,05 ml metil orange. Terbentuk warna kuning.

#### Penetapan kadar

Pada sediaan setara dengan 10 mg, tambah 25 ml kloroform, 10 ml natrium hidroksida 0,01 M dan 10 ml larutan 8% kalium iodida, kocok dan buang lapisan kloroformnya. Bilas lapisan air 3 kali, masing-masing dengan 10 ml kloroform. Pada fase air, tambah 40 ml asam klorida, kocok dan titrasi dengan kalium iodat 0,05 M sampai warna coklat muda. Tambah 5 sampai

10 ml kloroform, kocok dan titrasi kembali dengan kalium iodat 0,05 M sampai lapisan kloroform tak berwarna. Lakukan titrasi blanko. Selisih titran blanko dengan titran sediaan uji adalah jumlah titran yang dipergunakan. Setiap ml 0,05 M kalium iodat setara dengan 33,64 mg setrimid.

#### Penyimpanan

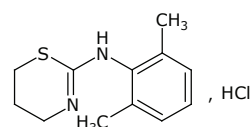
Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Silazin Hidroklorida

*Xylazine Hydrochloride*



$C_{12}H_{17}ClN_2S$

BM: 256,8

[7361-61-7]

#### Definisi

Silazin hidriklorida adalah N-(2,6-dimetilfenil)-5,6-dihidro-4H-1,3-tiazin-2-amin hidroklorida.

Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih, higroskopik.

**Kelarutan.** Larut dalam air, sangat larut dalam metanol dan metilen klorida.

#### Identifikasi

- Serapan spektrum inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar silazin hidriklorida.
- Memberikan reaksi dari klorida.

**Larutan S.** Larutkan 5,0 g dalam air bebas karbon dioksida, jika diperlukan panaskan pada suhu 60°C. Biarkan dingin dan encerkan dengan air bebas karbon dioksida sampai batas volume 50,0 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S tidak lebih opalesen dibandingkan larutan standar II dan tidak berwarna.

**pH.** Larutan S 4,0—5,5.

**Ketidakhurnian A.** Tidak lebih 100 ppm.

**Larutan A.** Larutkan dan encerkan 0,25 g zat uji dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan B.** Larutkan dan encerkan 50 mg 2,6-dimetil-anilin dalam metanol sampai batas volume 100 ml. Encerkan 1 ml larutan dengan metanol sampai batas volume 100 ml.

Pindahkan 2 ml larutan A ke tabung pertama, 1 ml

larutan B dalam tabung kedua dan tambah masing-masing dengan 1 ml metanol, 1 ml larutan segar dimetilaminobenzaldehid (10 g/l) dalam metanol dan 2 ml asam asetat glasial. Biarkan pada suhu ruang selama 10 menit. Bandingkan warna dengan memaparkan ke cahaya tegak lurus dengan latar belakang putih. Warna kuning dalam larutan uji tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan larutan standar.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pelarut.** Campur 8 volume asetonitril, 30 volume metanol dan 62 volume larutan kalium dihidrogen fosfat (2,72 g/l). Atur pH 7,2 dengan larutan natrium hidroksida encer.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam pelarut sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 5,0 mg zat uji, 5,0 mg 2,6-dimetilanilin, 5,0 mg ketidakhurnian silazin C dan 5,0 mg ketidakhurnian silazin E dalam asetonitril sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan pelarut sampai batas volume 10,0 ml.

**Kolom.** End-capped silika gel oktilsilil 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 15 cm x 3,9 mm atau yang sesuai, suhu 40°C.

**Fase gerak A.** Campur 30 volume metanol dan 70 volume larutan kalium dihidrogen fosfat (2,72 g/l). Atur pH 7,2 dengan larutan natrium hidroksida encer.

**Fase gerak B.** Campur metanol dan asetonitril (30:70 V/V).

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0—15	89 → 28	11 → 72
15—21	28	72
21—22	28 → 89	72 → 11
22—33	89	11

**Laju alir** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 230 nm.

Ekuilibrasi campuran 28 volume fase gerak A dan 72 volume fase gerak B selama 30 menit.

**Injek.** 20  $\mu\text{l}$ .

Waktu tambat relatif: silazin sekitar 7,5 menit, ketidakhurnian A sekitar 0,8, ketidakhurnian E sekitar 1,6, ketidakhurnian C sekitar 2,2.

**Kesesuaian sistem larutan standar.** Resolusi minimum 4,0 antara puncak ketidakhurnian A dan silazin.

#### Batas

**Ketidakhurnian C, E.** Untuk setiap ketidakhurnian, tidak lebih dari dua kali area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (0,2%).

**Ketidakhurnian B, D.** Untuk setiap ketidakhurnian, tidak lebih dari dua kali area puncak silazin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (0,2%).

**Ketidakhurnian lain.** Untuk setiap ketidakhurnian, tidak lebih dari dua kali area puncak silazin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (0,2%).

**Total ketidakhurnian selain B, C, D dan E.** Tidak lebih dari dua kali area puncak silazin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (0,2%).

**Abaikan batas.** 0,5 kali area puncak silazin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (0,05%); abaikan puncak lain pada blanko.

**Logam berat.** Tidak lebih dari 10 ppm. Pada 12 ml larutan memenuhi uji batas logam berat. Gunakan 10 ml standar Pb (1 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C selama 2 jam sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

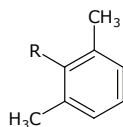
#### Penetapan kadar

Larutkan 0,2 g dalam 25 ml alkohol. Tambah 25 ml air. Titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 M, tentukan titik-akhir secara potensiometrik. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 25,68 mg  $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{S}$ .

#### Penyimpanan

Kedap udara, dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakhurnian

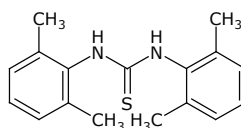


A. R =  $\text{NH}_2$ : 2,6-dimetilanilina (2,6-silidina).

C. R =  $\text{N} = \text{C} = \text{S}$ : 2,6-dimetilfenil isotiosianat.

D. R =  $\text{NH-CS-NH}-(\text{CH}_2)_3\text{-OH}$ : N-(2,6-dimetilfenil)-N'-(3-hidroksipropil)tiourea.

E. R =  $\text{NH-CS-S-CH}_3$ : Metil(2,6-dimetilfenil) karbamoditioat.



B. N,N'-bis(2,6-dimetilfenil)tiourea.

#### Khasiat

Obat penenang; obat penghilang sakit.

## Simetikon

*Simeticone*

#### Definisi

Simetikon adalah sediaan yang diperoleh dengan penyatuan 4%—7% silika ke dalam poli(dimetilsiloksan) dengan derajat polimerisasi antara 20 dan 400. Simetikon mengandung tidak kurang dari 90,5% dan tidak lebih dari 99,0% dari poli (dimetilsiloksan).

**Karakteristik**

**Pemerian.** Cairan kental putih keabuan.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, sangat sukar larut sampai praktis tidak larut dalam etanol, praktis tidak larut dalam metanol, bercampur dengan etil asetat, metilen klorida, metil etil keton dan toluen.

**Identifikasi**

C. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar simetikon. Serapan maksimum pada panjang gelombang  $2964\text{ cm}^{-1}$ ,  $2905\text{ cm}^{-1}$ ,  $1412\text{ cm}^{-1}$ ,  $1260\text{ cm}^{-1}$  dan  $1020\text{ cm}^{-1}$ . Zat uji sebagai film tipis diantara lempeng natrium klorida.

D. Panaskan 0,5 g zat uji dalam tabung reaksi di atas nyala api kecil sampai terbentuk uap putih. Pada larutan, tambah 1 ml asam kromotropat 1 g/l, garam natrium dalam asam sulfat sampai terbentuk uap. Kocok selama 10 detik dan panaskan di atas penangas air selama 5 menit. Terbentuk warna violet.

E. Residu yang diperoleh dalam penetapan silika, memberikan reaksi silikat.

**Keasaman.** Pada 2,0 g, tambah 25 ml campuran etanol dan eter dengan volume yang sama (sebelumnya dinetralkan dengan 0,2 ml bromo timol biru) dan kocok. Tidak lebih dari 3,0 ml natrium hidroksida 0,01 M diperlukan untuk mengubah warna larutan menjadi biru.

**Aktivitas penghilang busa**

**Larutan dokusat.** Larutkan 5,0 g natrium dokusat dalam 1 liter air, hangatkan sampai suhu  $50^{\circ}\text{C}$ .

**Larutan penghilang busa.** Pada 50 ml metil etil keton, tambah 0,25 g simetikon. Hangatkan tidak lebih dari  $50^{\circ}\text{C}$  dan kocok. Pada 100 ml larutan dokusat dan 1 ml larutan penghilang busa. Kocok selama 10 detik dan catat waktu antara akhir dari pengocokan dan bagian pertama dari permukaan yang bebas dari busa. Waktu tidak lebih dari 15 detik.

**Minyak mineral.** Pada 2,0 g, periksa dengan cahaya ultraviolet (365 nm). Fluoresensi tidak lebih kuat dibandingkan dengan larutan yang mengandung kuinin sulfat (0,1 ppm dalam asam sulfat 0,005 M).

**Senyawa fenil.** Larutkan 5,0 g dalam 10,0 ml sikloheksan. Periksa serapan pada panjang gelombang 200—350 nm menggunakan sikloheksan sebagai cairan kompensasi. Koreksi serapan dihitung dengan pengurangan serapan maksimum pada panjang gelombang 250—270 nm dikurangi serapan pada panjang gelombang 300 nm tidak lebih besar dari 0,2.

**Logam berat.** Larutan uji: Larutkan dan encerkan 1,0 g dengan metilen klorida sampai volume 20 ml. Tambah 1,0 ml larutan segar ditizon (0,02 g/l dalam metilen klorida), 0,5 ml air dan 0,5 ml campuran 1 volume amoniak encer dan 9 volume hidroksilamin hidroklorida (2 g/l). Larutan standar: Pada 20 ml metilen klorida, tambah 1,0 ml larutan segar ditizon (0,02 g/l dalam metilen klorida), 0,5 ml standar timbal

(10 ppm Pb) dan 0,5 ml campuran 1 volume amoniak encer dan 9 volume hidroksilamin hidroklorida (2 g/l). Aduk selama 1 menit. Terbentuk warna merah yang tidak lebih kuat dibandingkan standar (5 ppm).

**Zat menguap.** Tidak lebih dari 1,0%. Pada pengeringan dengan suhu  $150^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam. Gunakan 1 g.

**Penetapan kadar**

**Silika.** Tidak lebih dari 7%. Pada zat uji tidak kurang dari 20,0 mg, panaskan pada suhu  $800^{\circ}\text{C}$ , naikan suhu  $20^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ . Dengan sirkulasi gas nitrogen pada laju alir 200 ml/menit, timbang residu (silika).

**Dimetikon.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Pada 50 mg zat uji, tambah 25,0 ml toluen, aduk, tambah 50 ml asam hidroklorida encer, sumbat tabung dan aduk selama 5 menit. Pindahkan ke dalam labu pisah, diamkan dan pindahkan 5 ml lapisan atas ke dalam tabung yang mengandung 0,5 g natrium sulfat anhidrat. Aduk, sentrifus dan ukur larutan uji yang jernih.

**Larutan standar.** Larutkan 0,20 g standar dimetikon dalam 100,0 ml toluen. Lakukan dengan cara yang sama seperti pada larutan uji, menggunakan 25,0 ml dimetikon. Siapkan blanko dengan menggunakan 10 ml toluen.

Ukur larutan uji dan larutan standar pada panjang gelombang  $1330\text{ cm}^{-1}$  sampai  $1180\text{ cm}^{-1}$ , dan ukur serapan pada  $1260\text{ cm}^{-1}$ . Hitung kadar dimetikon dengan rumus:

$$\frac{25 C \times A_M \times 100}{A_E \times E}$$

Keterangan:

$A_M$  = serapan larutan uji

$A_E$  = serapan larutan standar,

$C$  = konsentrasi larutan standar (mg/ml)

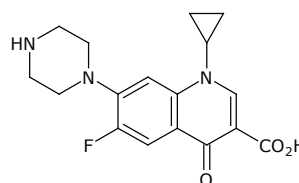
$E$  = berat zat uji (mg).

**Khasiat**

Surfaktan, antibloat.

## Siprofloksasin

*Ciprofloxacin*



$\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{FN}_3\text{O}_3$

BM: 331,4

[85721-33-1]

**Definisi**

Siprofloksasin adalah asam 1-siklopropil-6-fluoro-4-okso-7-(piperazin-1-il)-1,4-dihidrokuinolin-3-karboksilat.

Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kuning pucat dan sedikit higroskopis.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, sangat sukar larut dalam etanol, dan metilen klorida.

### Identifikasi

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar siprofloksasin.

**Kejernihan larutan.** Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warna dibandingkan dengan standar GY<sub>5</sub>. Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai volume 20 ml.

**Ketidakhurnian A.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50 mg zat uji dalam amoniak sampai volume 5 ml.

**Larutan standar.** Larutkan 10 mg standar ketidakhurnian siprofloksasin A dalam campuran 0,1 ml amonia encer dan 90 ml air, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml. Encerkan 2 ml larutan dengan air sampai volume 10 ml.

**Lempeng.** Silika gel F<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur asetonitril, amoniak pekat, metanol dan metilen klorida (10:20:40:40 V/V/V/V).

Dibagian bawah tank, tempatkan cawan yang mengandung 50 ml amoniak pekat. Paparkan lempeng selama 15 menit. Pindahkan lempeng ke tank yang lain yang mengandung fase gerak.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan diudara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm).

### Batas

**Ketidakhurnian A.** Bercak ketidakhurnian A pada kromatogram tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (0,2%).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Sediaan setara 25,0 mg, tambah 0,2 ml asam fosfat encer. Encerkan dengan fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan fase gerak sampai volume 5,0 ml

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 5 mg standar siprofloksasin dalam fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil (tidak aktif) 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 40°C.

**Fase gerak.** Campur 13 volume asetonitril dan 87 volume asam fosfat (2,45 g/l atur pH 3,0 dengan trietilamin).

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 278 nm.

**Injek.** 50 µl.

**Waktu uji.** Dua kali waktu tambat siprofloksasin.

**Waktu tambat relatif** Siprofloksasin sekitar 9 menit, ketidakhurnian E sekitar 0,4, ketidakhurnian F sekitar 0,5, ketidakhurnian B sekitar 0,6, ketidakhurnian C sekitar 0,7, ketidakhurnian D sekitar 1,2.

**Kesesuaian sistem larutan standar (b).** Resolusi minimum 1,3 antara puncak ketidakhurnian B dan ketidakhurnian C.

### Batas

**Faktor koreksi.** Mengkalikan puncak area ketidakhurnian dengan faktor koreksi: ketidakhurnian B = 0,7; ketidakhurnian C = 0,6; ketidakhurnian D = 1,4; ketidakhurnian E = 6,7; gunakan kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b);

**Ketidakhurnian B, C, D, E.** Untuk setiap ketidakhurnian, tidak lebih dari area utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,2%);

**Ketidakhurnian lain.** Tidak lebih dari setengah area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,1%);

**Total.** Tidak lebih dari 2,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,5%);

**Abaikan batas.** 0,25 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,05%).

**Logam berat.** Tidak lebih 20 ppm. Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam asam asetat sampai volume 30 ml. Tambah 2 ml air dan saring. Hasil saringan memenuhi batas uji. Gunakan 10 ml standar timbal (1 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih 1,0%. Pada pengeringan dengan suhu 120°C secara vakum sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g

**Abu sulfat.** Tidak lebih 0,1%. Gunakan 1,0 g.

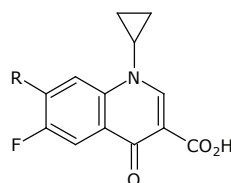
### Penetapan kadar

Larutkan 0,30 g dalam 80 ml asam asetat glasial. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M, tentukan titik akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 33,14 mg C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>.

### Penyimpanan

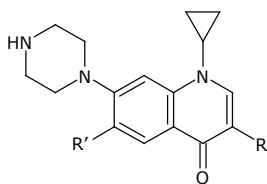
Wadah tertutup, kedap dan lindungi dari cahaya

### Ketidakhurnian

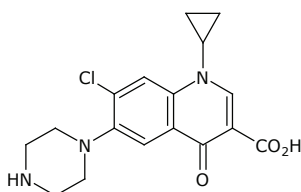


A. R = Cl: Asam 7-kloro-1-siklopropil-6-fluoro-4-okso-1,4-dihidrokuinolin-3-karboksilat (asam fluorokuinolonat).

- C. R = NH-[CH<sub>2</sub>]<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>: Asam 7-[(2-aminoetil)amino]-1-siklopropil-6-fluoro-4-okso-1,4-dihidrokuinolin-3-karboksilat(etilenediamina compound).



- B. R = CO<sub>2</sub>H, R' = H: Asam 1-siklopropil-4-okso-7-(piperazin-1-il)-1,4-dihidrokuinolin-3-karboksilat (desfluoro compound).  
 E. R = H, R' = F: 1-siklopropil-6-fluoro-7-(piperazin-1-il)kuinolin-4(1H)-on (dekarboksilat compound).  
 F. R = CO<sub>2</sub>H, R' = OH: Asam 1-siklopropil-6-hidroksi-4-okso-7-(piperazin-1-il)-1,4-dihidrokuinolin-3-karboksilat.



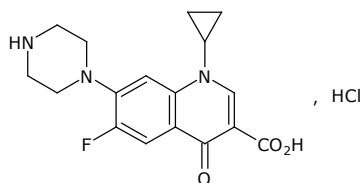
- D. Asam 7-kloro-1-siklopropil-4-okso-6-(piperazin-1-il)-1,4-dihidrokuinolin-3-karboksilat.

### Khasiat

Anti bakteri.

## Siprofloksasin Hidroklorida

*Ciprofloxacin Hydrochloride*



C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>, HCl      BM: 367,8      [86393-32-0]

### Definisi

Siprofloksasin hidriklorida adalah 1-siklopropil-6-fluoro-4-okso-7-(piperazin-1-il)-1,4-dihidrokuinolin-3-asam karboksilat hidroklorida.

Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal kuning pucat, agak higroskopis.

**Kelarutan.** Larut dalam air, sedikit larut dalam metanol, sangat sukar larut dalam etanol, praktis tidak larut dalam aseton, etil asetat dan metilen klorida.

### Identifikasi

- A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar siprofloksasin hidroklorida.

- B. Memberikan rekasi klorida. Gunakan 0,1 g.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 20 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warna dibandingkan dengan larutan standar GY<sub>5</sub>. Encerkan 10 ml larutan S dengan air sampai volume 20 ml.

**pH.** Larutan S 3,5—4,5.

**Ketidakhurnian A.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis seperti yang tertera dalam siprofloksasin:

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dalam siprofloksasin.

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam asam asetat sampai volume 30 ml. Tambah 2 ml air dan saring. Hasil saringan memenuhi batas uji. Gunakan 10 ml standar timbal (1 ppm Pb).

**Air.** Tidak lebih dari 6,7%. Gunakan 0,20 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1 g.

### Penetapan kadar

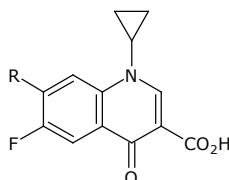
Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis siprofloksasin, menggunakan:

**Injek.** 10 µl larutan uji dan standar (a).

### Penyimpanan

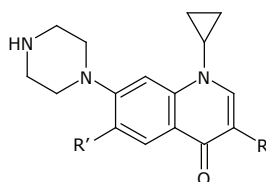
Wadah tertutup rapat, lindungi dari cahaya.

### Ketidakhurnian



- A. R = Cl: Asam 7-kloro-1-siklopropil-6-fluoro-4-okso-1,4-dihidrokuinolin-3-karboksilat (asam fluoroquinolonat).

- C. R = NH-[CH<sub>2</sub>]<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>: Asam 7-[(2-aminoetil)amino]-1-siklopropil-6-fluoro-4-okso-1,4-dihidrokuinolin-3-karboksilat (etilenediamina compound).

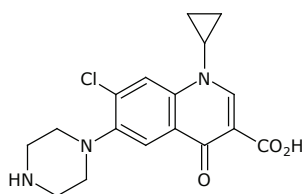


- B. R = CO<sub>2</sub>H, R' = H: Asam 1-siklopropil-4-okso-7-(piperazin-1-il)-1,4-dihidrokuinolin-3-karboksilat (desfluoro compound).

- E. R = H, R' = F: 1-siklopropil-6-fluoro-7-(piperazin-1-il)kuinolin-4(1H)-on (dekarboksilat compound).

- F. R = CO<sub>2</sub>H, R' = OH: Asam 1-siklopropil-6-hidroksi-4-okso-7-(piperazin-1-il)-1,4-dihidrokuinolin-3-karboksilat.





D. Asam 7-kloro-1-siklopropil-4-okso-6-(piperazin-1-il)-1,4-dihidroquinolin-3-karboksilat.

### Khasiat

Anti bakteri.

## Siprofloksasin Larutan Oral

### Definisi

Siprofloksasin larutan oral adalah larutan siprofloksasin dalam pembawa yang sesuai.

Larutan oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan larutan oral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel F<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Campur 10 volume asetonitril, 20 volume amoniak 13,5 M, 40 volume diklorometan dan 40 volume metanol.

**Larutan (1).** Sediaan uji siprofloksasin 0,05% b/v dalam air.

**Larutan (2).** Standar siprofloksasin 0,058% b/v dalam air.

**Larutan (3).** Campur 1 volume larutan (1) dan 1 volume larutan (2).

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara selama 15 menit. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm dan 365 nm).

Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan bercak yang diperoleh dari larutan (2). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) menunjukkan kompak.

B. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Sediaan uji siprofloksasin 0,2% b/v dalam air.

**Larutan (2).** Standar litium laktat 0,07% b/v dalam air.

**Kolom.** Resin penukar kation seperti Aminex HPX-87 H, 7—11 µm, ukuran 30 cm × 7,8 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 15 volume asetonitril dan 85 volume asam sulfat 0,0025 M.

**Laju alir.** 0,6 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 208 nm. Suhu 40°C.

Kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) menunjukkan puncak dan waktu tambat yang sama seperti puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2).

C. Pada penetapan kadar, waktu tambat puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sama dengan puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2).

**Keasaman.** pH 3,5—4,6.

**Warna larutan.** Larutan tidak lebih kuat intensitas warna dibandingkan dengan larutan standar GY<sub>6</sub>.

**5-Hidroksimetilfurfural.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Encerkan 1 volume sediaan dengan fase gerak (mengandung glucose 1,25% b/v) sampai 4 volume.

**Larutan (2).** 5-hidroksimetilfurfural 0,000625% b/v dalam fase gerak.

Kondisi kromatograf, seperti yang tertera dalam penetapan kadar. Area pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan hidroksimetilfurfural tidak lebih besar dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) (0,05%, dihitung dengan standar terhadap kadar glukosa).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair menggunakan:

**Larutan (1).** Sediaan siprofloksasin 0,05% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (2).** Standar siprofloksasin hidroklorida 0,05% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (3).** Encerkan 1 volume larutan (1) dengan fase gerak sampai 100 volumes. Encerkan 1 volume dengan fase gerak sampai 2 volume.

**Larutan (4).** Encerkan 1 volume larutan (1) dengan fase gerak sampai 100 volume. Encerkan 1 volume dengan fase gerak sampai 5 volume.

Untuk larutan (1), biarkan proses kromatografi sampai 2 kali waktu tambat siprofloksasin.

Kondisi kromatograf seperti yang tertera dalam penetapan kadar.

**Waktu tambat relatif.** Siprofloksasin sekitar 9 menit, ketidakhurnian E sekitar 0,4, ketidakhurnian F sekitar 0,5, ketidakhurnian B sekitar 0,6; ketidakhurnian C sekitar 0,7, ketidakhurnian D sekitar 1,2.

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2), faktor resolusi antara puncak ketidakhurnian siprofloksasin B dan ketidakhurnian siprofloksasin C tidak kurang 1,3.

Identifikasi setiap puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sesuai dengan ketidakhurnian siprofloksasin B, C, D dan E menggunakan larutan (2) dan mengalikan area dengan faktor koreksi

berikut: 0,7, 0,6, 1,4 dan 6,7. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1), area yang sesuai dengan area siprofloksasin ketidakhurnian C tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) (0,5%). Area selain area puncak kedua tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (4) (0,2%) dan total area tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) (0,5%). Abaikan batas puncak lain yang area kurang dari 0,1 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (3) (0,05%).

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Sediaan uji setara siprofloksasin 0,05% b/v dalam fase gerak.

**Larutan (2).** Standar siprofloksasin hidroklorida 0,058% b/v dalam fase gerak.

**Injek.** 5 µl dari setiap larutan.

**Kolom.** Nucleosil 120-C18 suhu 40°C.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Fase gerak.** Campur 13 volume asetonitril dan 87 volume asam ortofosfat 0,245% b/v, atur pH 3,0 dengan trietilamin.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 278 nm.

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Siprofloksasin Serbuk Oral

#### Definisi

Siprofloksasin serbuk oral mengandung siprofloksasin hidroklorida dalam pembawa yang sesuai.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

- Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, seperti yang tertera dalam uji identifikasi A pada siprofloksasin larutan oral.
- Pada penetapan kadar, waktu tambat puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) sama dengan puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dalam siprofloksasin larutan oral.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair, seperti yang tertera dalam siprofloksasin larutan oral menggunakan:

**Larutan (1).** Larutkan dan encerkan sediaan setara dengan 2 g siprofloksasin sampai konsentrasi siprofloksasin 0,05% b/v. Saring menggunakan kertas saring Whatman GF/C.

**Larutan (2).** Standar siprofloksasin hidroklorida. 058% b/v dalam fase gerak.

#### Penyimpanan

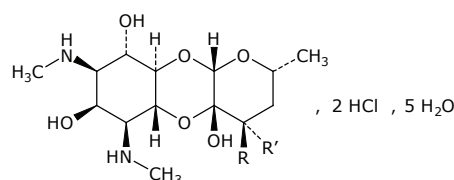
Dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Spektinomisin Dihidroklorida Pentahidrat

*Spectinomycin Dihydrochloride Pentahydrate*



$C_{14}H_{28}Cl_2N_2O_7 \cdot 5H_2O$  BM: 497,4

$C_{14}H_{24}N_2O_7 \cdot 2HCl \cdot 5H_2O$  BM: 495,4

[22189-32-8]

#### Definisi

Spektinomisin dihidroklorida pentahidrat adalah campuran dari (2R,4aR,5aR,6S,7S,8R,9S,9aR,10aS)4a,7,9-trihidroksi-2-metil-6,8-bis(metil amenito)dekahidro-4H-pirano[2,3-b][1,4]benzodioksin-4-on dihidroklorida pentahidrat (spektinomisin dihidroklorida pentahidrat) dan (2R,4R,4aS,5aR,6S,7S,8R,9S,9aR,10aS)-2-metil-6,8-bis(metilamenito) dekahidro-2H-pirano[2,3-b][1,4]benzodioksin-4,4a,7,9-tetrol dihidroklorida pentahidrat((4R)-dispektinomisin dihidroklorida pentahidrat). Zat diproduksi oleh *Streptomyces spectabilis* atau dengan cara-cara yang sesuai.

Mengandung tidak lebih dari 9,0% dari (4R)-dihidro-spektinomisin dihidroklorida (zat anhidrat).

Mengandung tidak kurang dari 93,0% dan tidak lebih dari 102,0% dari jumlah spektinomisin dihidroklorida dan (4R)-dihidro-spektinomisin dihidroklorida, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih, sedikit higroskopik.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, sangat sukar larut dalam etanol (96%).

**Identifikasi**

- A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar spektinomisin hidroklorida.
- B. Encerkan 1,0 ml larutan S dengan air sampai volume 10 ml. Larutan memberikan reaksi klorida.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 25,0 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan jernih dan tidak berwarna. Encerkan 2,0 ml larutan S dengan air sampai volume 20,0 ml.

**pH.** Larutan S 3,8—5,6.

**Rotasi jenis.** +15,0° sampai +21,0° (zat anhidrat). Gunakan larutan S.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 15,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 3 mg standar spektinomisin untuk kesesuaian sistem (mengandung ketidakmurnian A, C, D, E, F dan G) dalam fase gerak sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 3,0 ml larutan standar (b) dengan fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktilsilil 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Larutkan dan encerkan 4,2 g asam oksalat dan 2,0 ml asam heptafluorobutirat dalam air sampai batas volume 1000 ml. Atur pH 3,2 dengan larutan natrium hidroksida. Tambah 105 ml asetonitril dan aduk. Saring dengan penyaring 0,45 µm dan hilangkan gas dengan helium untuk kromatografi selama 10 menit.

**Laju alir kolom.** 1,0 ml/menit.

**Larutan pos kolom.** Encerkan natrium hidroksida bebas-karbonat dengan air bebas karbon dioksida sampai konsentrasi akhir natrium hidroksida (21 g/l). Hilangkan gas dengan helium untuk kromatografi selama 10 menit. sebelumnya hilangkan gas menggunakan 375 µl.

**Laju alir pos kolom.** 0,5 ml/menit.

**Detektor.** Amperometrik elektroda indikator emas diameter 1,4 mm atau yang sesuai, elektroda standar dan elektroda bantu baja tahan-karat adalah badan sel, berturut-turut +0,12 V pendeteksi, +0,70 V oksidasi dan -0,60 V pengurangan potensial, dengan jangka waktu sesuai dengan instrumen yang digunakan. Pertahankan suhu sel deteksi.

Bersihkan elektroda indikator emas dengan penghapus dan uap sesudah memulai sistem. Hal ini dapat meningkatkan sensitivitas detektor dan meningkatkan perbandingan puncak gangguan.

**Injek.** 20 µl.

**Waktu uji.** 1,5 kali waktu tambat spektinomisin.

**Identifikasi ketidakmurnian.** Gunakan kromatogram

dengan standar spektinomisin untuk kesesuaian sistem dan pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) untuk identifikasi puncak ketidakmurnian A, C, D, E, F dan G.

**Waktu tambat relatif.** Standar spektinomisin 11—20 menit, ketidakmurnian B sekitar 0,4, ketidakmurnian A sekitar 0,5, ketidakmurnian F sekitar 0,53, ketidakmurnian G sekitar 0,6, ketidakmurnian D sekitar 0,7, ketidakmurnian E sekitar 0,9, (4R)-dihidrospektinomisin sekitar 1,3, ketidakmurnian C sekitar 1,4.

**Kesesuaian sistem larutan standar (a).** Resolusi minimum 1,5 antara puncak ketidakmurnian E dan spektinomisin.

**Batas**

**Faktor-koreksi.** Mengalikan area puncak ketidakmurnian A oleh 0,4.

**Ketidakhmurnian D, E.** Untuk setiap ketidakmurnian, tidak lebih dari 4 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (4,0%).

**Ketidakhmurnian A, C, F, G.** Untuk setiap ketidakmurnian, tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,0%).

**Ketidakhmurnian lain.** Untuk setiap ketidakmurnian, tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,0%).

**Total.** Tidak lebih dari 6 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (6,0%).

**Abaikan batas.** Area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,3%), abaikan puncak (4R)-dihidrospektinomisin, dan puncak lain anomer.

**Air.** 16,0%—20,0%. Gunakan 0,2 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 1,0%. Gunakan 1,0 g.

**Endotoksin bakteri.** Tidak lebih dari 0,09 IU/mg.

**Penetapan potensi/kadar**

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis, dengan modifikasi berikut:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 40,0 mg zat uji dalam air sampai batas volume 50,0 ml. Diamkan tidak kurang dari 15 jam dan tidak lebih dari 72 jam (pembentukan anomer). Encerkan 5,0 ml larutan dengan fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

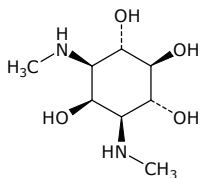
**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 40,0 mg standar spektinomisin hidroklorida (mengandung (4R)-dihidrospektinomisin) dalam air sampai batas volume 50,0 ml. Diamkan tidak kurang dari 15 jam dan tidak lebih dari 72 jam (pembentukan anomer). Encerkan 5,0 ml larutan dengan fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

**Kesesuaian sistem.** Simpangan baku relatif maksimum 3,0% untuk puncak utama setelah 6 kali injeksi larutan standar.

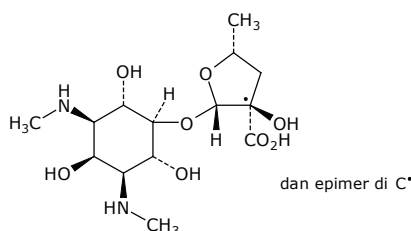
### Penyimpanan

Kedap udara.

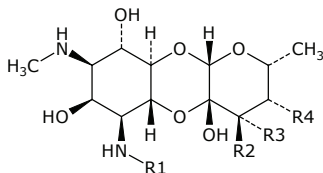
### Ketidakmurnian



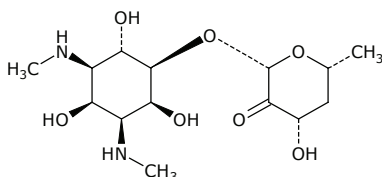
- A. 1,3-dideoksi-1,3-bis(metilamino)-mioinositol (aktinamin).



- B. Asam (2S,3RS,5R)-3-hidroksi-5-metil-2-[[[(1r,2R,3S,4r,5R,6S)-2,4,6-trihidroksi-3,5-bis(metilamino)sikloheksil]oksi]tetrahidrofuran-3-karboksilat (asam actinospektinoat).



- C. R1 = CH<sub>3</sub>, R2 = R4 = H, R3 = OH: (2R,4S,4aS,5aR,6S,7S,8R,9S,9aR,10aS)-2-metil-6,8-bis(metilamino)dekahidro-2H-pirano[2,3-b][1,4]benzodioksin-4,4a,7,9-tetrol((4S)-dihidrospektinomisin).
- D. R1 = CH<sub>3</sub>, R2 = H, R3 = R4 = OH: (2R,3R,4S,4aS,5aR,6S,7S,8R,9S,9aR,10aS)-2-metil-6,8-bis(metilamino)dekahidro-2H-pirano[2,3-b][1,4]benzodioksin-3,4,4a,7,9-pentol(dihidroksispektinomisin).
- E. R1 = R4 = H, R2 + R3 = O: (2R,4aR,5aR,6S,7R,8R,9S,9aR,10aS)-6-amino-4a,7,9-trihidroksi-2-metil-8-(metilamino)dekahidro-4H-pirano[2,3-b][1,4]benzodioksin-4-on (N-desmetilspektinomisin).
- G. R1 = CH<sub>3</sub>, R2 + R3 = O, R4 = OH: (2R,3S,4aR,5aR,6S,7S,8R,9S,9aR,10aS)-3,4a,7,9-tetrahidroksi-2-metil-6,8-bis(metilamino)dekahidro-4H-pirano[2,3-b][1,4]benzodioksin-4-on (tetrahidroksi spektinomisin).



- F. (2S,4S,6R)-4-hidroksi-6-metil-2-[[[(1r,2R,3S,4r,5R,6S)-2,4,6-trihidroksi-3,5-bis(metilamino)sikloheksil]oksi]dihidro-2H-piran-3 (4H)-on.

### Khasiat

Antibiotik.

## Spektinomisin Injeksi

### Definisi

Spektinomisin injeksi mengandung spektinomisin hidroklorida dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan injeksi dan persyaratan berikut. Mengandung spektinomisin hidroklorida tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih.

### Identifikasi

- A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar spektinomisin hidroklorida.
- B. Larutan 1% b/v menunjukkan reaksi klorida.

**Keasaman.** pH 4—7.

**Rotasi jenis.** Larutan 10% b/v, +15° sampai +21°.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 10 volume propan-1-ol, 8 volume air, 1 volume asam asetat glasial dan 1 volume piridin.

**Larutan uji (1).** Zat uji 2% b/v dalam air.

**Larutan uji (2).** Zat uji 0,020% b/v dalam air.

Totolkan 10 ml secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara, semprot dengan larutan 5% b/v kalium permanganat, dan biarkan selama 2-3 menit. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) kecuali bercak utama tidak lebih kuat intensitasnya terhadap bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2).

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 1%.

**Kadar air.** 16%—20%.

### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan menurut cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotika.

**Zat depresor.** Memenuhi uji untuk zat depresor, menggunakan sejumlah volume larutan yang mengandung 25 mg per ml, setara 1 ml per kg bobot kucing.

**Pirogen.** Memenuhi uji pirogenitas, menggunakan 75 mg/kg berat kelinci dilarutkan dalam tidak lebih dari 5 ml injek natrium klorida.

**Sterilitas.** Memenuhi uji sterilitas.

### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Spektinomisin Serbuk Oral****Definisi**

Spektinomisin serbuk oral mengandung spektinomisin hidroklorida dalam pembawa yang sesuai.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut.

Mengandung spektinomisin hidroklorida tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

- Pada 5 ml larutan spektinomisin hidroklorida, tambah larutan antron (1 dalam 100). Terbentuk warna biru kehijauan.
- Larutkan 20 mg spektinomisin hidroklorida dalam 3 ml air, tambah 1 tetes perak nitrat. Terbentuk warna putih keruh.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar spektinomisin hidroklorida.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 10 volume propan-1-ol, 8 volume air, 1 volume asam asetat glasial dan 1 volume piridin.

**Larutan uji (1).** Zat uji 2% b/v dalam air.

**Larutan uji (2).** Zat uji 0,020% b/v dalam air.

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan larutan 5% b/v kalium permanganat, dan biarkan selama 2-3 menit. Beberapa bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) kecuali bercak utama tidak lebih kuat intensitasnya dari bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2).

**Penetapan potensi/kadar**

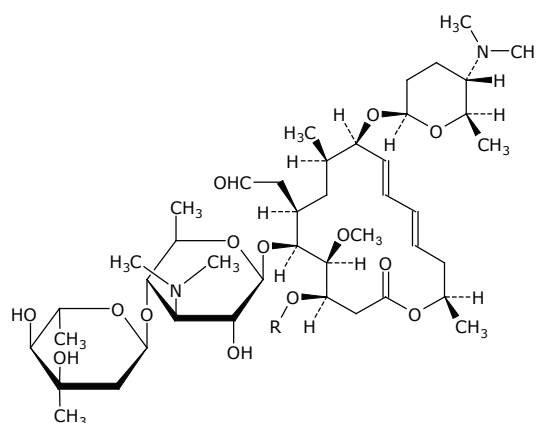
Lakukan penetapan seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotika.

**Penyimpanan**

Dalam wadah, tertutup kedap dan terlindung dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Spiramisin**  
*Spiramycin*

$C_{43}H_{74}N_2O_{14}$	BM: 843,1
$C_{45}H_{76}N_2O_{15}$	BM: 885,1
$C_{46}H_{78}N_2O_{15}$	BM: 899,1

[8025-81-8]

**Definisi**

Antibiotik makrolida yang diproduksi dengan pertumbuhan *Streptomyces ambofaciens* tertentu atau yang sesuai. Komponen utama adalah (4R,5S,6S,7R,9R,10R,11E,13E,16R)-6-[[3,6-dideoksi-4-O-(2,6-dideoksi-3-C-metil- $\alpha$ -L-ribo-heksopiranosil)-3-(dimetilamenito)- $\beta$ -D-glukopiranosil]oksi]-4-hidroksi-5-metoksi-9,16-dimetil-7-(2-oksoetil)-10-[[2,3,4,6-tetradideoksi-4-(dimetilamenito)-D-eritro-heksopiranosil]oksi]oksasikloheksadeka-11,13-dien-2-on (spiramisin I; BM 843). Spiramisin II (4-O-asetilspiramisin I) dan spiramisin III (4-O-propanoilspiramisin I).

Potensi tidak kurang dari 4.100 IU/mg (zat kering).

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk putih atau sedikit kekuningan, sedikit higroskopik.

**Kelarutan.** Sukar larut dalam air, mudah larut dalam aseton, etanol (96%) dan metanol.

**Identifikasi**

- Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam metanol sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan metanol sampai batas volume 100,0 ml. Periksa pada panjang gelombang 220 nm dan 350 nm, larutan menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 232 nm. Serapan spesifik maksimum sekitar 340.
- Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 40 mg zat uji dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 40 mg standar spiramisin dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 40 mg standar eritromisin A dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 4 volume 2-propanol, 8 volume amonium asetat (150 g/l, atur pH 9,6 dengan natrium hidroksida pekat) dan 9 volume etil asetat.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan larutan anisaldehyd dan panaskan pada suhu 110°C selama 5 menit.

**Hasil.** Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji adalah sama pada tempat, warna dan ukuran bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a). Jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji menunjukkan bercak 1 atau 2 dengan respon faktor sedikit lebih tinggi bercak utama, bercak ini adalah sama pada tempat dan warna terhadap bercak kedua yang diperoleh dengan larutan standar (a) dan berbeda dengan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b).

- C. Larutkan 0,5 g dalam 10 ml asam sulfat 0,05 M dan tambah 25 ml air. Atur pH 8 dengan natrium hidroksida 0,1 M dan encerkan dengan air sampai batas volume 50 ml. Pada 5 ml larutan, tambah 2 ml campuran 1 volume air dan 2 volume asam sulfat. Terbentuk warna coklat.

**pH.** 8,5—10,5. Larutkan 0,5 g dalam 5 ml metanol dan encerkan dengan air bebas karbon dioksida sampai batas volume 100 ml.

**Rotasi jenis.** -80° sampai -85° (zat kering). Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam asam asetat anhidrat sampai batas volume 50,0 ml.

**Komposisi.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis, menggunakan:

**Injek.** Larutan uji dan larutan standar (a).

Komposisi spiramisin dihitung dengan standar terhadap zat kering;

**Spiramisin I.** Tidak kurang dari 80,0%.

**Spiramisin II.** Tidak lebih dari 5,0%.

**Spiramisin III.** Tidak lebih dari 10,0%.

**Jumlah spiramisin I, II dan III.** Tidak kurang dari 90,0%.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Dapar pH 2,2.** Campurkan 6,7 ml asam fosfat dengan 50,0 ml larutan 4% v/v (natrium hidroksida 2 M) dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25,0 mg zat uji dalam campuran 3 volume metanol dan 7 volume air sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 25,0 mg standar spiramisin dalam campuran 3 volume metanol dan 7 volume air sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 2,0 ml larutan standar (a) dengan campuran 3 volume metanol dan 7 volume air sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan 5 mg standar spiramisin dalam 15,0 ml dapar pH 2,2 dan encerkan dengan air sampai batas volume 25,0 ml, panaskan dalam penangas air pada suhu 60°C selama 30 menit.

**Larutan blanko.** Metanol dan air (3:7 v/v).

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 70°C.

**Fase gerak.** Campur 5 volume dikalium hidrogen fosfat (34,8 g/l, atur pH 6,5 dengan kalium dihidrogen fosfat 27,2 g/l), 40 volume asetonitril dan 55 volume air.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 232 nm.

**Injek.** 20 µl larutan blanko, larutan uji dan larutan standar (b) dan (c).

**Waktu uji.** 3 kali waktu tambat spiramisin I.

**Identifikasi spiramisin.** Gunakan kromatogram dengan standar spiramisin dan pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) untuk identifikasi puncak spiramisin I, II dan III.

**Waktu tambat relatif.** Spiramisin I 20—30 menit, spiramisin II sekitar 1,4, spiramisin III sekitar 2,0, ketidakhurnian F sekitar 0,41, ketidakhurnian A sekitar 0,45, ketidakhurnian D sekitar 0,50, ketidakhurnian G 0,66, ketidakhurnian B sekitar 0,73, ketidakhurnian H sekitar 0,87, ketidakhurnian E sekitar 2,5.

Jika diperlukan atur komposisi asetonitril dalam fase gerak.

**Kesesuaian sistem larutan standar (c).** Resolusi minimum 10,0 antara puncak ketidakhurnian A dan spiramisin I.

**Batas**

**Ketidakhurnian A, B, C, D, E, F, G, H.** Untuk setiap ketidakhurnian, tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (2,0%).

**Ketidakhurnian lain.** Untuk setiap ketidakhurnian, tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (2,0%).

**Total.** Tidak lebih dari 5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (10,0%).

**Abaikan batas.** 0,05 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,1%), abaikan puncak lain dengan blanko dan puncak spiramisin I, II dan III.

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Pada 1,0 g memenuhi uji batas logam berat. Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 3,5%. Pada pengeringan dengan suhu 80°C di atas fosfor pentoksida dan tekanan tidak lebih dari 670 Pa sampai bobot tetap. Gunakan 0,5 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

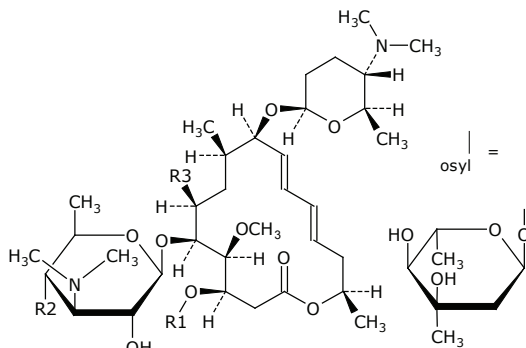
**Penetapan potensi**

Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

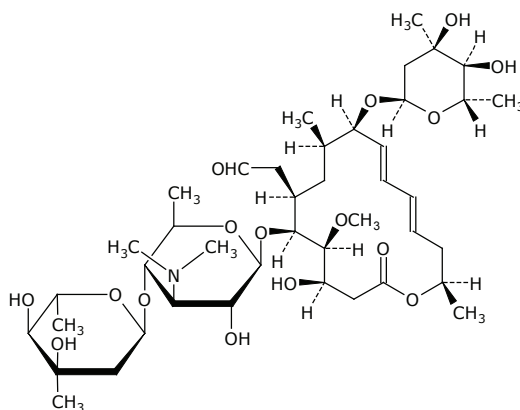
**Penyimpanan**

Kedap udara.

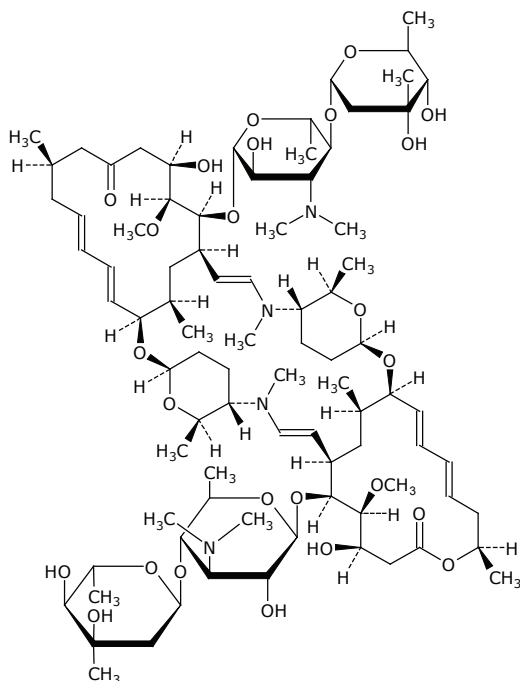
**Ketidakhurnian**

- 
- A. R1 = H, R2 = OH, R3 = CH<sub>2</sub>-CHO: (4R,5S,6S,7R,9R,10R,11E,13E,16R)-6-[[[3,6-dideoksi-3-(dimetilamino)-b-D-glukopiranosil]oksi]-4-hidroksi-5-metoksi-9,16-dimetil-7-(2-oksoetil)-10-[[2,3,4,6-tetradekoksi-4-(dimetilamino)-b-D-eritroheksopiranosil]oksi]oksa-sikloheksadeka-11,13-dien-2-on (neospiramisin I).
- B. R1 = H, R2 = osil, R3 = CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>OH: (4R,5S,6S,7R,9R,10R,11E,13E,16R)-6-[[[3,6-dideoksi-4-O-(2,6-dideoksi-3-C-metil-a-L-riboheksopiranosil)-3-(dimetilamino)-b-D-glukopiranosil]oksi]-4-hidroksi-7-(2-hidroksietil)-5-metoksi-9,16-dimetil-10-[[2,3,4,6-tetradekoksi-4-(dimetilamino)-b-D-eritroheksopiranosil]oksi]oksa-sikloheksadeka-11,13-dien-2-on (spiramisin IV).
- C. R1 = H, R2 = osil, R3 = C(=CH<sub>2</sub>)-CHO: (4R,5S,6S,7S,9R,10R,11E,13E,16R)-6-[[[3,6-dideoksi-4-O-(2,6-dideoksi-3-C-metil-a-L-riboheksopiranosil)-3-(dimetilamino)-b-D-glukopiranosil]oksi]-7-(1-formil-etil)-4-hidroksi-5-metoksi-9,16-dimetil-10-[[2,3,4,6-tetradekoksi-4-(dimetilamino)-b-D-eritroheksopiranosil]oksi]oksa-sikloheksadeka-11,13-dien-2-on (17-metilinspiramisin I).
- E. R1 = H, R2 = osil, R3 = CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>: (4R,5S,6S,7S,9R,10R,11E,13E,16R)-6-[[[3,6-dideoksi-4-O-(2,6-dideoksi-3-C-metil-a-L-riboheksopiranosil)-3-(dimetilamino)-b-D-glukopiranosil]oksi]-7-etil-4-hidroksi-5-metoksi-9,16-dimetil-10-[[2,3,4,6-tetradekoksi-4-(dimetilamino)-b-D-eritroheksopiranosil]oksi]oksa-sikloheksadeka-11,13-dien-2-on (18-deoksi-18-dihidrospiramisin I atau DSPM).
- G. R1 = CO-CH<sub>3</sub>, R2 = OH, R3 = CH<sub>2</sub>-CHO: (4R,5S,6S,7R,9R,10R,11E,13E,16R)-6-[[[3,6-dideoksi-3-(dimetilamino)-b-D-glukopiranosil]oksi]-5-metoksi-9,16-dimetil-2-okso-7-(2-oksoetil)-10-[[2,3,4,6-tetradekoksi-4-(dimetilamino)-b-D-eritroheksopiranosil]oksi]oksa-sikloheksadeka-11,13-dien-4-ilasetat (neospiramisin II).
- H. R1 = CO-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, R2 = OH, R3 = CH<sub>2</sub>-CHO: (4R,5S,6S,7R,9R,10R,11E,13E,16R)-6-[[[3,6-dideoksi-3-

(dimetilamino)-b-D-glukopiranosil]oksi]-5-metoksi-9,16-dimetil-2-okso-7-(2-oksoetil)-10-[[2,3,4,6-tetradekoksi-4-(dimetilamino)-b-D-eritroheksopiranosil]oksi]oksa-sikloheksadeka-11,13-dien-4-ilpropanoat (neospiramisin III).



- D. (4R,5S,6S,7R,9R,10R,11E,13E,16R)-6-[[[3,6-dideoksi-4-O-(2,6-dideoksi-3-C-metil-a-L-riboheksopiranosil)-3-(dimetilamino)-b-D-glukopiranosil]oksi]-10-[[2,6-dideoksi-3-C-metil-a-L-riboheksopiranosil]oksi]-4-hidroksi-5-metoksi-9,16-dimetil-7-(2-oksoetil)oksa-sikloheksadeka-11,13-dien-2-on (spiramisin V).



- F. Spiramisin dimmer.

**Khasiat**  
Antibiotik.

**Spiramisin Serbuk Oral**

**Definisi**

Spiramisin serbuk oral mengandung spiramisin adapat dalam pembawa yang sesuai.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut

Mengandung spiramisin adipat atau embonat tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

A. Larutkan 0,1 gram dalam metanol sampai batas volume 100 ml. Encerkan 1 ml larutan dengan 100 ml metanol. Spektrum serapan ultraviolet (220—350 nm), menghasilkan serapan maksimum hanya pada panjang gelombang 232 nm.

B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 40 mg sediaan uji dengan metanol sampai 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 40 mg standar spiramisin dengan metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 40 mg standar eritromisin dengan metanol sampai volume 10 ml.

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 4 volume 2 propanol, 8 volume amonium asetat 150 g/l, (atur pH 9,6 dengan natrium hidroksida pekat), dan 9 volume etil asetat.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan lempeng di udara. Semprot dengan larutan anisaldehyd dan panaskan pada suhu 110°C selama 5 menit. Pada kromatogram yang diperoleh larutan uji sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a). Jika pada kromatogram yang diperoleh larutan uji menunjukkan 1 dan 2 bercak dengan nilai Rf lebih besar dari bercak utama, menunjukkan bercak yang sama pada tempat dan warna dari bercak kedua pada kromatogram yang diperoleh larutan standar (a) dan bercak berbeda pada kromatogram yang diperoleh larutan standar (b).

C. Larutkan 0,5 g dalam 10 ml asam sulfat 0,05 M dan tambahkan 25 ml air. Atur pH 8 dengan natrium hidroksida 0,1 M dan encerkan dengan air sampai batas volume 50 ml. Pada 5 ml larutan tambah 2 ml campuran 1 volume air dan 2 volume asam sulfat, terbentuk warna coklat.

**pH.** Larutkan 0,5 g dengan 5 ml metanol dan encerkan dengan air bebas karbondioksida sampai batas volume 100 ml. pH larutan antara 8,5—10,5.

**Rotasi jenis.** -80,0° sampai -85,0°. Larutkan dan encerkan 1 g dengan asam asetat 10% v/v sampai batas volume 50 ml.

**Komposisi.** Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera pada uji senyawa sejenis, menggunakan:

**Injek.** Larutan uji dan larutan standar.

Komposisi spiramisin dihitung dengan standar terhadap zat kering;

**Spiramisin I.** Tidak kurang dari 80,0%

**Spiramisin II.** Tidak lebih besar dari 5,0%

**Spiramisin III.** Tidak lebih besar dari 10,0%

**Jumlah spiramisin I, II dan III.** Tidak kurang dari 90,0%.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25,0 mg sediaan uji dalam campuran 3 volume metanol dan 7 volume air sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 25,0 mg standar spiramisin dalam campuran 3 volume metanol dan 7 volume air sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 2 ml larutan standar (a) dalam campuran 3 volume metanol dan 7 volume air sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 5 mg standar spiramisin dalam dapar pH 2,2 dan encerkan dengan air sampai batas volume 25 ml. Panaskan di atas penangas air 60°C selama 30 menit.

**Larutan blanko.** Metanol dan air (3:7 v/v).

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai. Suhu 70°C.

**Fase gerak.** Campur 5 volume dinatrium hidrogen fosfat 34,8 g/l atur pH 6,5 dengan natrium dihidrogen fosfat 27,2 g/l, 40 volume asetonitril dan 55 volume air.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 232 nm.

**Injek.** 20 µl larutan blanko, larutan uji dan larutan standar (b) dan (c).

**Waktu uji.** 3 kali waktu tambat spiramisin I.

Identifikasi spiramisin menggunakan kromatogram yang diperoleh standar spiramisin dan kromatogram yang diperoleh larutan standar (a) yang menunjukkan bercak spiramisin I, II dan III.

**Waktu tambat.** Dengan standar spiramisin I (waktu tambat 20—30 menit), spiramisin II sekitar 1,4, spiramisin III sekitar 2,0, ketidakmurnian F sekitar 0,41, ketidakmurnian A sekitar 0,45, ketidakmurnian D sekitar 0,50, ketidakmurnian G sekitar 0,66, ketidakmurnian B sekitar 0,73, ketidakmurnian H sekitar 0,87, ketidakmurnian E sekitar 2,5. Jika perlu atur komposisi fase gerak dengan merubah volume asetonitril.

**Kesesuaian sistem larutan standar (c).** Resolusi tidak kurang dari 10,0 antara dua bercak yang diperoleh ketidakmurnian A dan spiramisin I.

#### Batas

**Ketidakmurnian A, B, C, D, E, F, G, H.** Untuk setiap ketidakmurnian, puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan standar (b) (2,0%).

**Ketidakmurnian lain.** Untuk setiap ketidakmurnian, puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan standar (b) (10,0%).

**Total.** Tidak lebih dari 5 kali area yang diperoleh



puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan standar (b) (10,0%).

**Abaikan batas.** Tidak lebih dari 0,05 kali area yang diperoleh puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan standar (b) (0,1%). Abaikan puncak lain yang diperoleh larutan blanko dan spiramisin I, II dan III.

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Pada 1 g memenuhi uji batas logam berat. Gunakan 2 ml larutan standar 10 ppm Pb.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 3,5%. Pada pengeringan dengan suhu 80°C di atas difosforus pentoksida dan tekanan tidak lebih dari 670 Pa selama 6 jam. Gunakan 0,5 g

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.

#### Penyimpanan

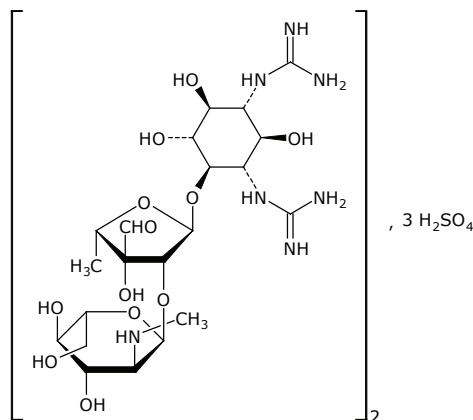
Dalam wadah, tertutup kedap dan terlindung dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Streptomisin Sulfat

*Streptomycin Sulphate*



$(C_{21}H_{39}N_7O_{12})_2 \cdot 3H_2SO_4$

BM: 1457

[3810-74-0]

#### Definisi

Streptomisin sulfat adalah bis[*N,N'*-bis(amenitometil)-4-*O*-[5-deoksi-2-*O*-[2-deoksi-2-(metilamenit)- $\alpha$ -*L*-glukopiranosil]-3-*C*-formil- $\alpha$ -*L*-liksofuranosil]-*D*-streptamenit] trisulfat, zat diproduksi dengan pertumbuhan *Streptomyces griseus* tertentu atau yang sesuai.

Potensi tidak kurang dari 720 IU/mg, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

Toksitas abnormal. Injek 1 mg zat uji dalam 0,5 ml air ke dalam tikus.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih, higroskopik.

**Kelarutan.** Sangat mudah larut dalam air, praktis tidak larut dalam etanol.

#### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel H atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 10 mg zat uji dalam air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar streptomisin sulfat dalam air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar kanamisin monosulfat, 10 mg standar neomisin sulfat dan 10 mg standar streptomisin sulfat dalam air sampai volume 10 ml.

**Fase gerak.** Kalium dihidrogen fosfat (70 g/l).

Totolkan 10  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan campuran 1,3-dihidroksinaftalen (2 g/l) dalam alkohol dan asam sulfat (460 g/l) dengan volume yang sama. Panaskan pada suhu 150°C selama 5–10 menit. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji adalah sama pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak yang diperoleh dengan larutan standar (a). Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan tiga bercak yang terpisah.

B. Larutkan 5–10 mg dalam 4 ml air dan tambah 1 ml natrium hidroksida 1M. Panaskan dalam penangas air selama 4 menit. Tambah sedikit asam hidroklorida encer dan 0,1 ml larutan besi (III) klorida. Terbentuk warna violet.

C. Larutkan 0,1 g dalam 2 ml air, tambahkan 1 ml larutan  $\alpha$ -naftol dan 2 ml campuran larutan natrium hipoklorit pekat dan air dengan volume yang sama. Terbentuk warna merah.

D. Larutkan 10 mg dalam 5 ml air dan tambah 1 ml asam hidroklorida 1M. Panaskan dalam penangas air selama 2 menit. Tambahkan 2 ml  $\alpha$ -naftol (5 g/l) dalam natrium hidroksida 1 M dan panaskan dalam penangas air selama 1 menit. Terbentuk warna kuning terang.

E. Memberikan reaksi sulfat.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 10 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan intensitas larutan standar. Lindungi dari cahaya, pada suhu 20°C selama 24 jam. Larutan tidak lebih opalesen dibandingkan standar II.

**pH.** Larutan S 4,5–7,0.

**Metanol.** Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 1,0 g zat uji dalam air sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar.** Encerkan 12,0 mg metanol dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Kolom.** Kopolimer etilvinilbenzen-divinilbenzen (150—180  $\mu\text{m}$ ), ukuran 1,5—2,0 m x 2—4 mm atau yang sesuai, suhu kolom 120—140°C dan injektor lebih tinggi 50°C dari suhu kolom.

**Gas pembawa.** Nitrogen.

**Laju alir.** 30—40 ml/menit.

**Detektor.** Flame-Ionisation Detector (FID), suhu detektor lebih tinggi 50°C dari suhu kolom.

**Injek.** Larutan uji dan larutan standar.

Area puncak metanol pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji tidak lebih besar dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (0,3%).

**Streptomisin B.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,2 g zat uji dalam campuran 3 volume asam sulfat (yang baru disiapkan) dan 97 volume metanol sampai volume 5 ml. Panaskan di bawah refluks kondensor selama 1 jam, dinginkan, bilas kondensor dengan metanol dan encerkan sampai volume 20 ml dengan bahan pelarut yang sama (10 g/l).

**Larutan standar.** Larutkan 36 mg mannose dalam campuran 3 volume asam sulfat (yang baru disiapkan) dan 97 volume metanol sampai volume 5 ml. Panaskan di bawah refluks kondensor selama 1 jam, dinginkan, bilas kondensor dengan metanol dan encerkan sampai volume 20 ml dengan bahan pelarut yang sama. Encerkan 5 ml larutan dengan metanol sampai batas volume 50 ml (0,3 g/l larutan menyatakan streptomisin B; setiap mg mannose setara dengan 4,13 mg streptomisin B).

**Fase gerak.** Campur 25 volume asam asetat glasial, 25 volume metanol dan 50 volume toluen.

Totolkan 1  $\mu\text{l}$  secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan campuran 1,3-dihidroksinaftalen (2 g/l) dalam alkohol dan asam sulfat 20% v/v dengan volume yang sama dan panaskan pada suhu 110°C selama 5 menit. Bercak lain streptomisin B pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (3,0%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 7,0%. Pada pengeringan dengan suhu 60°C di atas fosfor pentoksida dan tekanan tidak lebih dari 0,1 kPa sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 1,0%. Gunakan 1,0 g.

**Sulfat.** 18,0—21,5%, dihitung dengan standar terhadap zat kering. Larutkan 0,25 g dalam 100 ml air dan atur

pH 11 dengan amoniak pekat. Tambah 10,0 ml barium klorida 0,1 M dan 0,5 mg ungu ftalein. Titrasi dengan natrium edetat 0,1 M, tambah 50 ml alkohol ketika warna larutan mulai berubah dan lanjutkan titrasi sampai warna biru-violet hilang.

Setiap ml barium klorida 0,1 M setara dengan 9,606 mg sulfat ( $\text{SO}_4$ ).

**Kolorimetri.** Zat uji dan standar streptomisin sulfat kering pada 60°C di atas fosfor pentoksida dan tekanan tidak lebih dari 0,1 kPa selama 24 jam.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji kering dalam air sampai batas volume 100,0 ml. Pada 5,0 ml larutan, tambah 5,0 ml natrium hidroksida 0,2 M dan panaskan selama 10 menit dalam penangas air. Dinginkan dalam es selama 5 menit, tambah 3 ml besi (III) amonium sulfat (15 g/l) dalam asam sulfat 0,5 M, encerkan dengan air sampai batas volume 25,0 ml dan aduk.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 0,1 g standar streptomisin sulfat kering dalam air sampai batas volume 100,0 ml. Pada 5,0 ml larutan, tambah 5,0 ml natrium hidroksida 0,2 M dan panaskan selama 10 menit dalam penangas air. Dinginkan dalam es selama 5 menit, tambah 3 ml besi (III) amonium sulfat (15 g/l) dalam asam sulfat 0,5 M, encerkan dengan air sampai batas volume 25,0 ml dan aduk.

**Larutan kompensasi.** Pada 5 ml air, tambah 5,0 ml natrium hidroksida 0,2 M dan panaskan selama 10 menit dalam penangas air. Dinginkan dalam es selama 5 menit, tambah 3 ml besi (III) amonium sulfat (15 g/l) dalam asam sulfat 0,5 M, encerkan dengan air sampai batas volume 25,0 ml dan aduk.

Setelah 20 menit penambahan besi (III) amonium sulfat (15 g/l), ukur serapan maksimum larutan uji dan larutan standar pada panjang gelombang 525 nm, gunakan larutan kompensasi. Serapan larutan uji tidak kurang dari 90,0% dari larutan standar.

**Endotoksin bakteri.** Tidak lebih dari 0,25 IU/mg.

#### Penetapan potensi

Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

#### Penyimpanan

Kedap udara.

#### Khasiat

Antibiotik.

## Streptomisin Sulfat Injeksi

#### Definisi

Streptomisin injeksi mengandung streptomisin sulfat dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan injeksi dan persyaratan berikut.

Mengandung streptomisin sulfat tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Larutan tak berwarna sampai kuning.

**Identifikasi**

Didihkan sediaan dengan natrium hidroksida 1 M selama beberapa menit dan tambah sedikit asam hidroklorida dan beberapa tetes larutan besi (III) klorida. Terbentuk warna violet cerah.

**Zat depresor.** Memenuhi uji untuk zat depresor. Encerkan sediaan setara dengan 3,75 mg/ml streptomisin basa dengan air untuk injeksi, diberikan 1 ml/kg berat kucing.

**Keasaman.** pH 5—6,5.

**Penetapan potensi/kadar**

Lakukan penetapan menurut cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotika.

**Toksitas abnormal.** Memenuhi syarat uji toksitas abnormal. Encerkan sediaan setara dengan 0,75 mg streptomisin diencerkan sampai tidak lebih dari 0,5 ml.

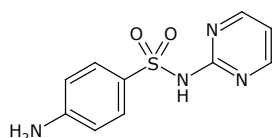
**Pirogen.** Memenuhi syarat uji pirogen. Encerkan sediaan setara dengan 9 mg streptomisin dengan air untuk injeksi sampai tidak lebih dari 5 ml.

**Penyimpanan**

Dalam wadah, tertutup kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Sulfadiazin***Sulfadiazine* $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ 

BM: 250,3

[68-35-9]

**Definisi**

Sulfadiazin mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari 4-amino-N-pirimidin-2-ilbensulfonamid, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal atau kristal putih, putih kekuningan atau putih kemerahan.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, sukar larut dalam aseton, sangat sukar larut dalam alkohol. Larut dalam alkali hidroksida dan asam mineral encer.

**Suhu lebur.** 255°C, dengan dekomposisi.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: B, C, D.

- A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sulfadiazin.
- B. Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji senyawa sejenis. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a) sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- C. Pada 3 g dalam tabung, basahi bagian bawah tabung dengan minyak silikon dan panaskan pada suhu 270°C. Zat uji terdekomposisi dan menyublim dengan terbentuk warna putih atau putih kekuningan, setelah rekristalisasi dari toluen dan keringkan pada suhu 100°C. Suhu lebur 123°—127°C.
- D. Larutkan 5 mg dalam 10 ml asam hidroklorida 1 M. Encerkan 1 ml larutan dengan air sampai volume 10 ml. Larutan memberikan reaksi amina aromatik primer.

**Kejernihan larutan.** Larutkan 0,8 g dalam campuran 5 ml natrium hidroksida encer dan 5 ml air. Larutan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar  $Y_5$ ,  $BY_5$  atau  $GY_5$ .

**Keasaman.** Pada 1,25 g, tambah 25 ml air bebas karbon dioksida. Panaskan pada suhu 70°C selama 5 menit. Dinginkan dalam air es selama 15 menit dan saring. Pada 20 ml hasil saringan, tambahkan 0,1 ml larutan bromotimol biru. Tidak lebih dari 0,2 ml natrium hidroksida 0,1 M yang diperlukan untuk mengubah warna indikator.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 20 mg zat uji dalam 3 ml campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai volume 5,0 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan 0,10 g zat uji dalam 0,5 ml amoniak pekat dan encerkan dengan metanol sampai volume 5,0 ml. Jika larutan keruh, panaskan sampai jernih.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar sulfadiazin dalam 3 ml campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai volume 5,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,25 ml larutan uji (a) dengan campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai batas volume 50 ml.

**Fase gerak.** Campur 3 volume amoniak encer, 5 volume air, 40 volume nitrometana dan 50 volume dioksan.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 105°C. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b), selain bercak utama, tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

**Logam berat.** Pada 1,0 g memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

#### Penetapan kadar

Lakukan penetapan amino-nitrogen aromatik primer, menggunakan larutan uji: Larutkan 0,2 g zat uji dalam 50 ml asam hidroklorida encer atau pelarut yang sesuai dan tambah 3 g kalium bromida. Dinginkan dalam air es. Titrasi dengan natrium nitrit 0,1 M. Tentukan titik akhir secara elektrometrik. Setiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 25,03 mg  $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ .

#### Penyimpanan

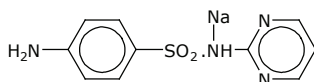
Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Anti bakteri.

## Sulfadiazin Natrium

*Sulfadiazine Sodium*



$C_{10}H_9N_4NaO_2S$

BM: 272,28

[547-32-0]

#### Definisi

Sulfadiazin natrium mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_{10}H_9N_4NaO_2S$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal atau kristal putih, putih kekuningan atau putih kemerahan.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, sukar larut dalam aseton, sangat sukar larut dalam alkohol. Larut dalam alkali hidroksida dan asam meniteral encer.

**Suhu lebur.** 255°C, dengan dekomposisi.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: B, C, D.

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sulfadiazin.
- Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji senyawa sejenis. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a) sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- Pada 3 g dalam tabung, basahi bagian bawah tabung dengan minyak silikon dan panaskan pada suhu 270°C. Zat uji terdekomposisi dan menyublim

dengan terbentuk warna putih atau putih kekuningan, setelah rekristalisasi dari toluen dan keringkan pada suhu 100°C. Suhu lebur 123°—127°C.

D. Larutkan 5 mg dalam 10 ml asam hidroklorida 1 M. Encerkan 1 ml larutan dengan air sampai volume 10 ml. Larutan memberikan reaksi amina aromatik primer.

E. Pijarkan 500 mg, residu memberikan reaksi natrium.

**Kejernihan larutan.** Larutkan 0,8 g dalam campuran 5 ml natrium hidroksida encer dan 5 ml air. Larutan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar  $Y_5$ ,  $BY_5$  atau  $GY_5$ .

**Keasaman.** Pada 1,25 g, tambah 25 ml air bebas karbon dioksida. Panaskan pada suhu 70°C selama 5 menit. Dinginkan dalam air es selama 15 menit dan saring. Pada 20 ml hasil saringan, tambahkan 0,1 ml larutan bromotimol biru. Tidak lebih dari 0,2 ml natrium hidroksida 0,1 M yang diperlukan untuk mengubah warna indikator.

**Logam berat.** Pada 1,0 g memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

#### Penetapan kadar

Lakukan penetapan amino-nitrogen aromatik primer, menggunakan larutan uji: Larutkan 500 mg zat uji dalam 50 ml asam hidroklorida encer atau pelarut yang sesuai dan tambah 3 g kalium bromida. Dinginkan dalam air es. Titrasi dengan natrium nitrit 0,1 M. Tentukan titik akhir secara elektrometrik. Setiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 27,23 mg  $C_{10}H_9N_4NaO_2S$ .

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Anti-bakteri.

## Sulfadiazin dan Trimetoprim Injeksi

#### Definisi

Sulfadiazin dan trimetoprim injeksi mengandung suspensi steril sulfadiazin natrium dan trimetoprim dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% untuk masing-masing zat aktif dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

- Serapan ultraviolet akan memberikan serapan maksimum hanya pada panjang gelombang 271 nm untuk trimetoprim.

- B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 75 volume etil asetat, 15 volume dimetilformamida dan 5 volume air.

**Larutan (1).** Sediaan setara sulfadiazin 0,2% b/v dalam amonia-metanol 1,4M.

**Larutan (2).** Sediaan setara trimetoprim 0,2% b/v dalam amonia-metanol 1,4M.

**Larutan (3).** Standar sulfadiazin 0,2% b/v dalam amonia-metanol 1,4M.

**Larutan (4).** Standar trimetoprim 0,2% b/v dalam amonia-metanol 1,4M.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat dan keringkan di udara. Semprot dengan larutan 4-dimetil-aminobenzaldehida 0,1% b/v dalam campuran 1 ml asam hidroklorida dan 100 ml etanol (96%), biarkan kering dan semprot dengan larutan kalium iodobismutat encer. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) memiliki Rf 0,7 sesuai dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan (3), Bercak yang diperoleh dengan larutan (2) memiliki Rf 0,3 sama dengan bercak utama yang diperoleh pada larutan (4).

- C. Pada 5 ml hasil saringan yang diperoleh untuk penetapan sulfadiazin, tambah 10 ml air dan 5 ml dapar asam sitrat-tiobarbiturat, campur dan panaskan di atas penangas air selama 30 menit. Terbentuk warna merah muda.

**Kebasaan.** pH 10–10,5.

#### Penetapan kadar

**Sulfadiazin.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Sediaan setara dengan 2 g sulfadiazin, tambah 50 ml natrium hidroksida 0,1M, kemudian ekstraksi 2 kali masing-masing dengan 100 ml dan 50 ml kloroform. Bilas ekstrak dengan 25 ml natrium hidroksida 0,1M. Lapisan kloroform untuk uji trimetoprim. Encerkan fase air dengan air sampai batas volume 250 ml dan saring. Pada 5 ml hasil saringan, encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml. Pada 10 ml larutan, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml (larutan A). Larutan A untuk penetapan kadar sebagai berikut:

1. Pada 3 ml larutan A, tambah 1 ml asam klorida 2M dan 1 ml 0,1% natrium nitrit, biarkan selama 2 menit, tambah 1 ml larutan 0,5% amonium sulfamat, biarkan selama 3 menit dan tambah 1 ml larutan 0,1% N-(1-naftil) etan-1-2-diamonium dihidroklorida. Biarkan selama 10 menit dan encerkan dengan air sampai batas volume 25 ml. Ukur pada panjang gelombang 538 nm.
2. Pada 3 ml larutan A, tambah air sampai batas volume 25 ml. Ukur pada panjang gelombang 254 nm.

**Trimetoprim.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Ekstraksi lapisan kloroform 3 kali, masing-masing dengan 100 ml, 50 dan 50 ml larutan asam asetat 1 M. Encerkan ekstrak dengan asam asetat 1 M sampai batas volume 500 ml. Pada 5 ml larutan, tambah 35 ml asam asetat 1 M dan air sampai batas volume 200 ml. Ukur pada panjang gelombang 271 nm.

#### Penyimpanan

Dilindung dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Sulfadiazin dan Trimetoprim Serbuk Oral

#### Definisi

Sulfadiazin dan trimetoprim serbuk oral mengandung sulfadiazin natrium dan trimetoprim dalam pembawa yang sesuai. Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut. Mengandung sulfadiazin dan trimetoprim, masing-masing tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

- A. Serapan ultraviolet akan memberikan serapan maksimum hanya pada panjang gelombang 271 nm untuk trimetoprim.
- B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub>.

**Fase gerak.** Campur 75 volume etil asetat, 15 volume dimetilformamida, 5 volume air.

**Larutan (1).** Sediaan setara sulfadiazin 0,2% b/v dalam amonia-metanol 1,4M.

**Larutan (2).** Sediaan setara trimetoprim 0,2% b/v dalam amonia-metanol 1,4M.

**Larutan (3).** Standar sulfadiazin 0,2% b/v dalam amonia-metanol 1,4M.

**Larutan (4).** Standar trimetoprim 0,2% b/v dalam amonia-metanol 1,4M.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan larutan 4-dimetilaminobenzaldehida 0,1% b/v dalam campuran 1 ml asam hidroklorida dan 100 ml etanol (96%), biarkan kering dan semprot dengan larutan kalium iodobismutat encer. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) memiliki Rf 0,7 sesuai dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan (3), Bercak yang diperoleh dengan larutan (2) memiliki Rf 0,3 sesuai dengan bercak utama yang diperoleh larutan (4).

- C. Pada 5 ml hasil saringan yang diperoleh untuk penetapan sulfadiazin, tambah 10 ml air dan 5 ml larutan dapar asam sitrat-tiobarbiturat, aduk dan panaskan di atas penangas air selama 30 menit. Terbentuk warna merah muda.

**Penetapan kadar**

**Sulfadiazin.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Sediaan setara dengan 2 g sulfadiazin, tambah 50 ml natrium hidroksida 0,1 M, ekstraksi 2 kali masing-masing dengan 100 ml dan 50 ml kloroform. Bilas ekstrak dengan 25 ml natrium hidroksida 0,1 M. Lapisan kloroform untuk uji trimetoprim. Encerkan fase air dengan air sampai batas volume 250 ml dan saring. Pada 5 ml hasil saringan, encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml. Pada 10 ml larutan, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml (larutan A). Larutan A untuk penetapan kadar berikut:

1. Pada 3 ml larutan A, tambah 1 ml asam klorida 2 M dan 1 ml 0,1% natrium nitrit, biarkan selama 2 menit, tambah 1 ml larutan 0,5% amonium sulfamat, biarkan selama 3 menit dan tambah 1 ml larutan 0,1% N-(1-naftil) etan-1-2-diamonium dihidroklorida. Biarkan selama 10 menit dan encerkan dengan air sampai batas volume 25 ml. Ukur pada panjang gelombang 538 nm.
2. Pada 3 ml larutan A, tambah air sampai batas volume 25 ml. Ukur pada panjang gelombang 254 nm.

**Trimetoprim.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Ekstraksi lapisan kloroform 3 kali, masing-masing dengan 100 ml, 50 dan 50 ml larutan asam asetat 1 M. Encerkan ekstrak dengan asam asetat 1 M sampai batas volume 500 ml. Pada 5 ml larutan, tambah 35 ml asam asetat 1 M dan air sampai batas volume 200 ml. Ukur pada panjang gelombang 271 nm.

**Penyimpanan**

Dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Sulfadiazin dan Trimetoprim Suspensi Oral

**Definisi**

Sulfadiazin dan trimetoprim suspensi oral mengandung sulfadiazin natrium dan trimetoprim dalam pembawa yang sesuai.

Suspensi oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan suspensi oral dan persyaratan berikut.

Mengandung sulfadiazin dan trimetoprim, masing-masing tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

- A. Serapan ultraviolet akan memberikan serapan maksimum hanya pada panjang gelombang 271 nm untuk trimetoprim.
- B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 75 volume etil asetat, 15 volume dimetilformamida dan 5 volume air.

**Larutan (1).** Sediaan setara sulfadiazin 0,2% b/v dalam amonia-metanol 1,4 M.

**Larutan (2).** Sediaan setara trimetoprim 0,2% b/v dalam amonia-metanol 1,4 M.

**Larutan (3).** Standar sulfadiazin 0,2% b/v dalam amonia –metanol 1,4 M.

**Larutan (4).** Standar trimetoprim 0,2% b/v dalam amonia –metanol 1,4 M.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat dan keringkan di udara. Semprot dengan larutan 4-dimetilaminobenzaldehida 0,1% b/v dalam campuran 1 ml asam hidroklorida dan 100 ml etanol (96%), biarkan kering dan semprot dengan larutan kalium iodobismutat encer. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) memiliki R<sub>f</sub> 0,7 sesuai dengan bercak utama yang diperoleh dengan larutan (3), Bercak yang diperoleh dengan larutan (2) memiliki R<sub>f</sub> 0,3 sama dengan bercak utama yang diperoleh pada larutan (4).

- C. Pada 5 ml hasil saringan yang diperoleh untuk penetapan sulfadiazin, tambah 10 ml air dan 5 ml dapar asam sitrat-tiobarbiturat, campur dan panaskan di atas penangas air selama 30 menit. Terbentuk warna merah muda.

**Kebasaan.** pH 10—10,5.

**Penetapan kadar**

**Sulfadiazin.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Sediaan setara dengan 2 g sulfadiazin, tambah 50 ml natrium hidroksida 0,1 M, kemudian ekstraksi 2 kali masing-masing dengan 100 ml dan 50 ml kloroform. Bilas ekstrak dengan 25 ml natrium hidroksida 0,1 M. Lapisan kloroform untuk uji trimetoprim.

Encerkan fase air dengan air sampai batas volume 250 ml dan saring. Pada 5 ml hasil saringan, encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml. Pada 10 ml larutan, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml (larutan A).

Larutan A untuk penetapan kadar sebagai berikut:

1. Pada 3 ml larutan A, tambah 1 ml asam klorida 2 M dan 1 ml 0,1% natrium nitrit, biarkan selama 2 menit, tambah 1 ml larutan 0,5% amonium sulfamat, biarkan selama 3 menit dan tambah 1 ml larutan 0,1% N-(1-naftil) etan-1-2-diamonium dihidroklorida. Biarkan selama 10 menit dan encerkan dengan air sampai batas volume 25 ml. Ukur pada panjang gelombang 538 nm.
2. Pada 3 ml larutan A, tambah air sampai batas volume 25 ml. Ukur pada panjang gelombang 254 nm.

**Trimetoprim.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Ekstraksi lapisan kloroform 3 kali, masing-masing dengan 100 ml, 50 dan 50 ml larutan asam asetat 1 M.

Encerkan ekstrak dengan asam asetat 1 M sampai batas volume 500 ml. Pada 5 ml larutan, tambah 35 ml asam asetat 1 M dan air sampai batas volume 200 ml. Ukur pada panjang gelombang 271 nm.

#### Penyimpanan

Dalam wadah, tertutup kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

### Sulfadiazin dan Trimetoprim Tablet

#### Definisi

Sulfadiazin dan trimetoprim tablet mengandung sulfadiazin natrium dan trimetoprim dalam pembawa yang sesuai.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut:

Mengandung sulfadiazin dan trimetoprim, masing-masing tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

Lakukan dengan metode seperti yang tertera untuk sulfadiazin dan trimetoprim serbuk oral.

#### Penetapan kadar

Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada penetapan sulfadiazin dan trimetoprim serbuk oral.

#### Penyimpanan

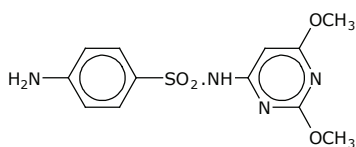
Dalam wadah, tertutup kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

### Sulfadimetoksin

*Sulfadimethoxine*



$C_{12}H_{14}N_4O_4S$  BM: 310,33 [122-11-2]

#### Definisi

Sulfadimetoksin mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5%  $C_{12}H_{14}N_4O_4S$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau putih kekuningan.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, sukar larut

dalam etanol (95%), larut dalam asam mineral encer, larutan alkali hidroksida dan larutan alkali karbonat.

#### Identifikasi

A. Suhu lebur  $198^{\circ}$ — $204^{\circ}C$ .

B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sulfadimetoksin.

C. Memberikan reaksi amina aromatik primer, terbentuk endapan merah jingga.

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Pada 1,0 g memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5% pada pengeringan dengan suhu  $105^{\circ}C$  sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

#### Penetapan kadar

Lakukan penetapan amino-nitrogen aromatik primer, menggunakan larutan uji: Larutkan 500 mg zat uji dalam 50 ml asam hidroklorida encer atau pelarut yang sesuai dan tambah 3 g kalium bromida. Dinginkan dalam air es. Titrasi dengan natrium nitrit 0,1 M. Tentukan titik akhir secara elektrometrik.

Setiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 31,03 mg  $C_{12}H_{14}N_4O_4S$ .

#### Penyimpanan

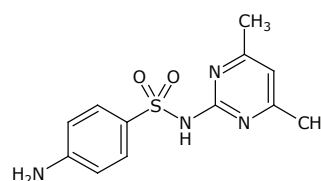
Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Anti bakteri.

### Sulfadimidin

*Sulfadimidine*



$C_{12}H_{14}N_4O_2S$  BM: 278,3 [57-68-1]

#### Definisi

Sulfadimidin mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari 4-amino-N-(4,6-dimetilpirimidin-2-il)benzensulfonamid, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, dapat larut dalam aseton, sukar larut dalam alkohol. Larut dalam larutan alkali hidroksida dan dalam asam mineral encer.

**Suhu lebur.**  $197^{\circ}C$ , dengan dekomposisi.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: B, C, D.

- A. Spektrum serapan inframerah sama dengan spektrum serapan standar sulfadimidin.
- B. Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji senyawa sejenis. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a) sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- C. Pada 3 g dalam tabung, basahi bagian bawah tabung dengan minyak silikon dan panaskan pada suhu 270°C. Zat uji terdekomposisi dan menyublim dengan terbentuk warna putih atau putih kekuningan, setelah rekristalisasi dari toluen dan keringkan pada suhu 100°C. Suhu lebur 150°–154°C.
- D. Larutkan 5 mg dalam 10 ml asam hidroklorida 1 M. Encerkan 1 ml larutan dengan air sampai volume 10 ml. Larutan memberikan reaksi amina aromatik primer.

**Kejernihan larutan.** Larutkan 0,5 g dalam campuran 5 ml natrium hidroksida encer dan 5 ml air. Larutan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar Y<sub>5</sub>, BY<sub>5</sub> atau GY<sub>5</sub>.

**Keasaman.** Pada 1,25 g, tambah 25 ml air bebas karbon dioksida. Panaskan pada suhu 70°C selama 5 menit. Dinginkan dalam air es selama 15 menit dan saring. Pada 20 ml hasil saringan, tambah 0,1 ml larutan bromotimol biru. Tidak lebih dari 0,2 ml natrium hidroksida 0,1 M yang diperlukan untuk mengubah warna indikator.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 20 mg zat uji dalam 3 ml campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai volume 5,0 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan 0,10 g zat uji dalam 0,5 ml amoniak pekat dan encerkan dengan metanol sampai volume 5,0 ml. Jika larutan keruh, panaskan perlahan-lahan sampai jernih.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar sulfadimidin dalam 3 ml campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai volume 5,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,25 ml larutan uji (a) dengan campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai batas volume 50 ml.

**Fase gerak.** Campur 3 volume amoniak encer, 5 volume air, 40 volume nitrometana dan 50 volume dioksan.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 105°C. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm).

Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b), selain bercak utama, tidak lebih kuat

intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

**Logam berat.** Pada 1,0 g memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

**Penetapan kadar**

Lakukan penetapan amino-nitrogen aromatik primer, menggunakan larutan uji: Larutkan 0,25 g zat uji dalam 50 ml asam hidroklorida encer atau pelarut yang sesuai dan tambah 3 g kalium bromida.

Dinginkan dalam air es dan titrasi dengan natrium nitrit 0,1 M. Tentukan titik akhir secara elektrometrik.

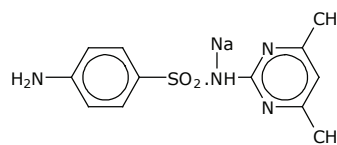
Setiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 27,83 mg C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S.

**Penyimpanan**

Dilindungi dari cahaya.

**Khasiat**

Anti-bakteri.

**Sulfadimidin Natrium***Sulfadimidine Sodium*

C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>2</sub>S

BM: 300,32

[1981-58-4]

**Definisi**

Sulfadimidin natrium mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0% C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>2</sub>S, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau putih kekuningan, higroskopik.

**Kelarutan.** Larut dalam 2,5 volume air dan 60 volume etanol (95%).

**Identifikasi**

- A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sulfadimidin natrium.
- B. Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji senyawa sejenis. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a) sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- C. Pada 3 g dalam tabung, basahi bagian bawah tabung dengan minyak silikon dan panaskan pada suhu



270°C. Zat uji terdekomposisi dan menyublim dengan terbentuk warna putih atau putih kekuningan, setelah rekristalisasi dari toluen dan keringkan pada suhu 100°C. Suhu lebur 150°–154°C.

- D. Larutkan 5 mg dalam 10 ml asam hidroklorida 1 M. Encerkan 1 ml larutan dengan air sampai volume 10 ml. Larutan memberikan reaksi amina aromatik primer.
- E. Pijarkan 500 mg, residu memberikan reaksi natrium.

**Kejernihan larutan.** Larutkan 0,5 g dalam campuran 5 ml natrium hidroksida encer dan 5 ml air. Larutan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar  $Y_5$ ,  $BY_5$  atau  $GY_5$ .

**Keasaman.** Pada 1,25 g, tambah 25 ml air bebas karbon dioksida. Panaskan pada suhu 70°C selama 5 menit. Dinginkan dalam air es selama 15 menit dan saring. Pada 20 ml hasil saringan, tambah 0,1 ml larutan bromotimol biru. Tidak lebih dari 0,2 ml natrium hidroksida 0,1 M yang diperlukan untuk mengubah warna indikator.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 20 mg zat uji dalam 3 ml campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai volume 5,0 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan 0,10 g zat uji dalam 0,5 ml amoniak pekat dan encerkan dengan metanol sampai volume 5,0 ml. Jika larutan keruh, panaskan sampai jernih.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar sulfadimidin natrium dalam 3 ml campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai volume 5,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,25 ml larutan uji (a) dengan campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai batas volume 50 ml.

**Fase gerak.** Campur 3 volume amoniak encer, 5 volume air, 40 volume nitrometana dan 50 volume dioksan.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 105°C. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b), selain bercak utama, tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

**Logam berat.** Pada 1,0 g memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 2,0%. Keringkan pada suhu 105°C. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

### Penetapan kadar

Lakukan penetapan amino-nitrogen aromatik primer, menggunakan larutan uji: Larutkan 500 mg zat uji dalam 50 ml asam hidroklorida encer atau pelarut yang sesuai dan tambah 3 g kalium bromida. Dinginkan dalam air es. Titrasi dengan natrium nitrit 0,1 M. Tentukan titik akhir secara elektrometrik. Setiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 30,03 mg  $C_{12}H_{13}N_4NaO_2S$ .

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Khasiat

Anti-bakteri.

## Sulfadimidin Injeksi

### Definisi

Sulfadimidin injeksi mengandung sulfadimidin natrium dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi sulfadimidin adalah larutan steril dalam air untuk injeksi sulfadimidin natrium yang dibuat oleh interaksi antara sulfadimidin dan hidroksida.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan injeksi dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Karakteristik

**Pemerian.** Larutan injeksi mengandung 1 g/3ml, berwarna tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar.

### Identifikasi

Asamkan dengan asam asetat 6M, saring, bilas residu dengan air dan keringkan pada suhu 105°C.

- A. Spektrum serapan inframerah dari residu sesuai dengan spektrum serapan standar sulfadimidin.
- B. Suhu lebur dari residu yang diperoleh pada uji A, sekitar 198°C.
- C. Residu yang diperoleh pada uji A menunjukkan reaksi amin aromatik primer. Terbentuk endapan kuning muda-merah terang.
- D. Uapkan hasil saringan sampai kering yang diperoleh pada uji A. Pijarkan residu, jika dibasahi dengan asam klorida dan ditempelkan pada kawat platina, pijarkan diatas api, terbentuk warna kuning pada nyala api.

**Kebasaan.** pH antara 10–11.

**Senyawa sejenis.** Memenuhi uji A untuk senyawa sejenis sulfonamid, menggunakan:

**Larutan (1).** Sediaan injeksi yang telah diencerkan, jika perlu encerkan dengan air, mengandung sulfadimidin natrium 0,20% b/v.

**Larutan (2).** Larutan sulfadimidin 0,0020% b/v dalam campuran 9 volume etanol (96%) dan 1 volume amonia 13,5M.

**Penetapan kadar**

**Sulfadimidin.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Sediaan setara dengan 2 g sulfadimidin, tambah 50 ml natrium hidroksida 0,1M, kemudian ekstraksi 2 kali masing-masing dengan 100 ml dan 50 ml kloroform. Bilas ekstrak dengan 25 ml natrium hidroksida 0,1M. Lapisan kloroform untuk uji trimetoprim. Encerkan fase air dengan air sampai batas volume 250 ml dan saring. Pada 5 ml hasil saringan, encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml. Pada 10 ml larutan, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml (larutan A). Larutan A untuk penetapan kadar sebagai berikut:

1. Pada 3 ml larutan A, tambah 1 ml asam klorida 2M dan 1 ml 0,1% natrium nitrit, biarkan selama 2 menit, tambah 1 ml larutan 0,5% amonium sulfamat, biarkan selama 3 menit dan tambah 1 ml larutan 0,1% N-(1-naftil) etan-1-2-diamonium dihidroklorida. Biarkan selama 10 menit dan encerkan dengan air sampai batas volume 25 ml. Ukur pada panjang gelombang 538 nm.
2. Pada 3 ml larutan A, tambah air sampai batas volume 25 ml. Ukur pada panjang gelombang 254 nm.

**Penyimpanan**

Dalam wadah, tertutup kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Sulfadimidin dan Trimetoprim Suspensi Oral

**Definisi**

Sulfadimidin dan trimetoprim suspensi oral mengandung sulfadimidin natrium dan trimetoprim dalam pembawa yang sesuai.

Mengandung sulfadimidin dan trimetoprim, masing-masing tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

- A. Larutkan 10 mg dalam campuran 10 ml air dan 1 ml natrium hidroksida 0,1M, tambah 0,5 ml larutan tembaga (II) sulfat. Terbentuk abu kecoklatan dan endapan coklat kemerahan.
- B. Didihkan perlahan-lahan larutan 500 mg dalam 1 ml asam sulfat 40% v/v selama 2 menit sampai terbentuk endapan, dinginkan, tambah 10 ml larutan natrium hidroksida 8% b/v. ekstrak dengan 20 ml eter, saring melalui lapisan natrium sulfat anhidrat. Uapkan di atas penangas air sampai kering, suhu lebur endapan 2-amino-4,6-demetil pirimidin 153°C.

**Penetapan kadar**

**Sulfadimidin.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Sediaan setara dengan 2 g sulfadimidin, tambah 50 ml natrium hidroksida 0,1M, kemudian ekstraksi 2 kali masing-masing dengan 100 ml dan 50 ml kloroform. Bilas ekstrak dengan 25 ml natrium hidroksida 0,1M. Lapisan kloroform untuk uji trimetoprim. Encerkan fase air dengan air sampai batas volume 250 ml dan saring. Pada 5 ml hasil saringan, encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml. Pada 10 ml larutan, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml (larutan A). Larutan A untuk penetapan kadar sebagai berikut:

1. Pada 3 ml larutan A, tambah 1 ml asam klorida 2M dan 1 ml 0,1% natrium nitrit, biarkan selama 2 menit, tambah 1 ml larutan 0,5% amonium sulfamat, biarkan selama 3 menit dan tambah 1 ml larutan 0,1% N-(1-naftil) etan-1-2-diamonium dihidroklorida. Biarkan selama 10 menit dan encerkan dengan air sampai batas volume 25 ml. Ukur pada panjang gelombang 538 nm.
2. Pada 3 ml larutan A, tambah air sampai batas volume 25 ml. Ukur pada panjang gelombang 254 nm.

**Trimetoprim.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Ekstraksi lapisan kloroform 3 kali, masing-masing dengan 100 ml, 50 dan 50 ml larutan asam asetat 1M. Encerkan ekstrak dengan asam asetat 1M sampai batas volume 500 ml. Pada 5 ml larutan, tambah 35 ml asam asetat 1M dan air sampai batas volume 200 ml. Ukur pada panjang gelombang 271 nm.

**Penyimpanan**

Dalam wadah, tertutup kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Sulfadimidin Tablet

**Definisi**

Sulfadimidin tablet mengandung sulfadimidin natrium dalam pembawa yang sesuai.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut.

Mengandung sulfadimidin tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%  $C_{12}H_{14}N_4O_2S$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

Sediaan setara dengan 0,5 g sulfadimidin, ekstrak 2 kali, masing-masing dengan 5 ml kloroform, buang lapisan kloroform. Pada residu, tambah 10 ml amonia 5M, biarkan selama 5 menit, tambah 10 ml air dan saring. Hangatkan sampai bau amonia hilang, dinginkan dan

asamkan dengan asam asetat 6M, terbentuk endapan, bilas dengan air dan keringkan pada suhu 105°C memenuhi syarat berikut:

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sulfadimidin.
- Suhu lebur 198°C.
- Menunjukkan reaksi amina aromatik primer dan terbentuk endapan warna orange terang.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 30 volume kloroform, 12 volume metanol dan 1 volume amonia 13,5 M.

**Larutan (1).** Sediaan setara dengan 100 mg sulfadimidin dengan 10 ml campuran 3 volume amonia 12,5 M dan 22 volume metanol, saring. Gunakan hasil saringan.

**Larutan (2).** Sulfadimidin 0,0050% w/v dalam 10 ml campuran 3 volume amonia 12,5 M dan 22 volume metanol, saring. Gunakan hasil saringan.

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng, panaskan pada suhu 105°C selama 10 menit, semprot dengan larutan 4-dimetilaminobenzaldehid 0,1% b/v dalam etanol (96%) mengandung asam hidroklorida 1% b/v. Setiap bercak yang diperoleh larutan dan bercak utama lain, abaikan bercak pada garis awal tidak lebih kuat intensitasnya dari bercak yang diperoleh dari larutan (2).

#### Penetapan kadar

**Sulfadimidin.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Sediaan setara dengan 2 g sulfadimidin, tambah 50 ml natrium hidroksida 0,1 M, kemudian ekstraksi 2 kali masing-masing dengan 100 ml dan 50 ml kloroform. Bilas ekstrak dengan 25 ml natrium hidroksida 0,1 M. Lapisan kloroform untuk uji trimetoprim. Encerkan fase air dengan air sampai batas volume 250 ml dan saring. Pada 5 ml hasil saringan, encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml. Pada 10 ml larutan, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml (larutan A). Larutan A untuk penetapan kadar sebagai berikut:

- Pada 3 ml larutan A, tambah 1 ml asam klorida 2 M dan 1 ml 0,1% natrium nitrit, biarkan selama 2 menit, tambah 1 ml larutan 0,5% amonium sulfamat, biarkan selama 3 menit dan tambah 1 ml larutan 0,1% N-(1-naftil) etan-1-2-diamonium dihidroklorida. Biarkan selama 10 menit dan encerkan dengan air sampai batas volume 25 ml. Ukur pada panjang gelombang 538 nm.
- Pada 3 ml larutan A, tambah air sampai batas volume 25 ml. Ukur pada panjang gelombang 254 nm.

#### Penyimpanan

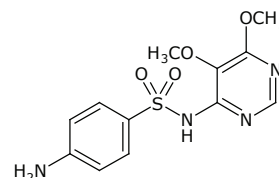
Dalam wadah, tertutup kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Sulfadoksin

### Sulfadoxine



$C_{12}H_{14}N_4O_4S$

BM: 310,3

[2447-57-6]

#### Definisi

Sulfadoksin mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari 4-amenito-N-(5,6-dimetoksipirimidin-4-il)benzensulfonamid, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau putih kekuningan.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, sukar larut dalam alkohol dan metanol. Larut dalam larutan alkali hidroksida dan asam mineral encer.

**Suhu lebur.** 198°C, dengan dekomposisi.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, C.

Identifikasi kedua: B, C, D.

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sulfadoksin.
- Periksa pada kromatogram yang diperoleh dalam uji senyawa sejenis. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- Larutkan 0,5 g dalam 1 ml asam sulfat 40% v/v, panaskan perlahan-lahan. Lanjutkan pemanasan sampai terbentuk endapan kristal (sekitar 2 menit). Dinginkan dan tambah 10 ml natrium hidroksida encer. Dinginkan lagi. Tambah 25 ml eter kocok selama 5 menit. Pisahkan lapisan eter, keringkan di atas natrium sulfat anhidrat dan saring. Uapkan bahan pelarut dalam penangas air. Suhu lebur residu 80°—82°C atau 90°—92°C.
- Larutkan 5 mg dalam 10 ml asam hidroklorida 1 M. Encerkan 1 ml larutan dengan air sampai volume 10 ml. Larutan memberikan reaksi amina aromatik primer.

**Kejernihan larutan.** Larutkan 1,0 g dalam campuran 5 ml natrium hidroksida encer dan 5 ml air. Larutan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar Y<sub>5</sub>, BY<sub>5</sub> atau GY<sub>5</sub>.

**Keasaman.** Pada 1,25 g, tambah 25 ml air bebas karbon dioksida. Panaskan pada suhu 70°C selama 5 menit.

Dinginkan dalam air es selama 15 menit dan saring. Pada 20 ml hasil saringan, tambah 0,1 ml larutan bromotimol biru. Tidak lebih dari 0,2 ml natrium hidroksida 0,1 M yang diperlukan untuk mengubah warna indikator.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam 3 ml campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai volume 5,0 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai volume 5,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar sulfadoksin dalam 3 ml campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai volume 5,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 2,5 ml larutan uji (b) dengan campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai batas volume 100 ml.

**Fase gerak.** Campur 3 volume amoniak encer, 5 volume air, 40 volume nitrometana dan 50 volume dioksan.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 105°C. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b), selain bercak utama, tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

**Logam berat.** Pada 1,0 g memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5% pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

Lakukan penetapan amino-nitrogen aromatik primer, menggunakan larutan uji: Larutkan 0,25 g zat uji dalam 50 ml asam hidroklorida encer atau pelarut yang sesuai dan tambah 3 g kalium bromida. Dinginkan dalam air es. Titrasi dengan natrium nitrit 0,1 M. Tentukan titik akhir secara elektrometri.

Setiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 31,03 mg C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S.

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Anti-bakteri.

## Sulfadoksin dan Trimetoprim Injeksi

### Definisi

Sulfadoksin dan trimetoprim injeksi mengandung suspensi steril sulfadoksin natrium dan trimetoprim dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% untuk masing – masing zat aktif dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

- Uapkan 50 ml larutan B yang diperoleh pada penetapan kadar trimetoprim sampai volume 10 ml, netralkan dengan natrium hidroksida 5 M dan asamkan dengan asam asetat 2 M. Larutkan endapan dengan pemanasan dan penambahan volume kecil etanol (25%). Dinginkan dan rekristalisasi endapan dari etanol (25%), bilas dengan air dan keringkan pada suhu 105°C. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sulfadoksin.
- Uapkan 100 ml larutan A yang diperoleh pada penetapan kadar trimetoprim sampai 4 ml, pindahkan isi tabung dengan bantuan 4 ml air panas dan biarkan dingin. Bilas kristal yang dihasilkan dengan air dan keringkan pada suhu 105°C. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar trimetoprim.
- Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 19 volume kloroform dan 1 volume metanol

**Larutan (1).** Encerkan sediaan dengan metanol sampai konsentrasi sulfadoksin 2,5% b/v.

**Larutan (2).** Standar lidokain hidroklorida 0,04% b/v dalam natrium hidroksida 0,1 M dalam metanol.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan kalium iodobismutat. Pada 0,85 g bismut subnitrat, tambah 10 ml asam asetat glasial dan panaskan sampai larut sempurna. Tambah 40 ml air dan biarkan dingin. Pada 5 ml larutan, tambah 5 ml kalium iodid (400 g/l), 20 ml asam asetat glasial dan 70 ml air].

Untuk sediaan yang dinyatakan mengandung lidokain hidroklorida, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) menunjukkan bercak yang sesuai dengan yang diperoleh dari larutan (2).

**Kebasaan.** pH 9,0—10,5.

### Penetapan kadar

**Trimetoprim.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Siapkan kolom penukar ion (Dowex 1-X1) [yang sebelumnya telah diperlakukan sebagai berikut: Bilas dengan 100 ml air, 50 ml natrium hidroksida 1 M, dan tambah air

sampai air bilasan netral. Bilas dengan 70 ml asam hidroklorida 0,1 M dalam metanol (70% v/v) dan bilas kembali dengan air. Biarkan kolom basah dengan metanol (70% v/v)]. Sediaan setara dengan 0,2 g trimetoprim, ekstraksi 2 kali masing-masing dengan 10 ml dimetilformamid, kemudian 2 kali, masing-masing dengan 20 ml metanol. Pada campuran ekstrak, tambah metanol sampai batas volume 100 ml. Pada 25 ml larutan, tambah 10 ml air dan alirkan ke dalam kolom penukar ion. Elusikan dengan metanol (70% v/v) sampai volume eluat 200 ml (larutan A). Elusikan dengan 150 ml asam hidroklorida 0,1 M dalam metanol (70% v/v), tambah asam hidroklorida 0,1 M dalam metanol (70% v/v) sampai batas volume 200 ml (larutan B). Larutan B untuk penetapan sulfadoksin dan uji identifikasi A. Pada 10 ml larutan A, tambah 1 ml natrium hidroksida 1 M dan metanol (70% v/v) sampai batas volume 100 ml. Ukur pada panjang gelombang 288 nm.

**Sulfadoksin.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Pada 2 ml larutan B, tambah asam hidroklorida 0,1 M dalam metanol (70% v/v) sampai batas volume 250 ml. Ukur pada panjang gelombang 267 nm.

#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Sulfadoksin dan Trimetoprim Tablet

#### Definisi

Sulfadoksin dan trimetoprim tablet mengandung sulfadoksin dan trimetoprim dalam pembawa yang sesuai.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut:

Mengandung sulfadiazin dan trimetoprim masing-masing tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

- A. Uapkan 50 ml larutan B yang diperoleh pada penetapan kadar trimetoprim sampai volume 10 ml, netralkan dengan natrium hidroksida 5 M dan asamkan dengan asam asetat 2 M. Larutkan endapan dengan pemanasan dan penambahan volume kecil etanol (25%). Dinginkan dan rekristalisasi endapan dari etanol (25%), bilas dengan air dan keringkan pada suhu 105°C. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sulfadoksin.
- B. Uapkan 100 ml larutan A yang diperoleh pada penetapan kadar trimetoprim sampai 4 ml, pindahkan isi tabung dengan bantuan 4 ml air panas dan biarkan dingin. Bilas kristal yang dihasilkan dengan air dan keringkan pada suhu 105°C. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar trimetoprim

- C. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 19 volume kloroform dan 1 volume metanol.

**Larutan (1).** Encerkan sediaan dengan metanol sampai konsentrasi sulfadoksin 2,5% b/v.

**Larutan (2).** Standar lidokain hidroklorida 0,04% b/v dalam natrium hidroksida 0,1 M dalam metanol.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan kalium iodobismutat [Pada 0,85 g bismut subnitrat, tambah 10 ml asam asetat glasial dan panaskan sampai larut sempurna. Tambah 40 ml air dan biarkan dingin. Pada 5 ml larutan, tambah 5 ml kalium iodid (400 g/l), 20 ml asam asetat glasial dan 70 ml air].

Untuk sediaan yang dinyatakan mengandung lidokain hidroklorida, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) menunjukkan bercak yang sesuai dengan yang diperoleh dari larutan (2).

**Kebasaan.** pH 9,0—10,5.

#### Penetapan kadar

**Trimetoprim.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Siapkan kolom penukar ion (Dowex 1-X1) [yang sebelumnya telah diperlakukan sebagai berikut: Bilas dengan 100 ml air, 50 ml natrium hidroksida 1 M, dan tambah air sampai air bilasan netral. Bilas dengan 70 ml asam hidroklorida 0,1 M dalam metanol (70% v/v) dan bilas kembali dengan air. Biarkan kolom basah dengan metanol (70% v/v)]. Sediaan setara dengan 0,2 g trimetoprim, ekstraksi 2 kali masing-masing dengan 10 ml dimetilformamid, kemudian 2 kali, masing-masing dengan 20 ml metanol. Pada campuran ekstrak, tambah metanol sampai batas volume 100 ml. Pada 25 ml larutan, tambah 10 ml air dan alirkan ke dalam kolom penukar ion. Elusikan dengan metanol (70% v/v) sampai volume eluat 200 ml (larutan A). Elusikan dengan 150 ml asam hidroklorida 0,1 M dalam metanol (70% v/v), tambah asam hidroklorida 0,1 M dalam metanol (70% v/v) sampai batas volume 200 ml (larutan B). Larutan B untuk penetapan sulfadoksin dan uji identifikasi A. Pada 10 ml larutan A, tambah 1 ml natrium hidroksida 1 M dan metanol (70% v/v) sampai batas volume 100 ml. Ukur pada panjang gelombang 288 nm.

**Sulfadoksin.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Pada 2 ml larutan B, tambah asam hidroklorida 0,1 M dalam metanol (70% v/v) sampai batas volume 250 ml. Ukur pada panjang gelombang 267 nm.

#### Penyimpanan

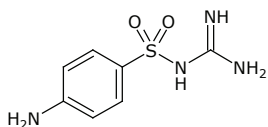
Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Sulfaguanidin

*Sulfaguanidine*



$C_7H_{10}N_4O_2S$

BM: 214,3

[56-67-0]

### Definisi

Sulfaguanidin mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari (4-amenitofenilsulfonil) guanidin, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air dan etanol (96%), sukar larut dalam aseton, praktis tidak larut dalam metilen klorida. Larut dalam larutan asam mineral encer.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: A, C, D, E.

- Suhu lebur  $189^{\circ}$ — $193^{\circ}$ C, ditentukan terhadap zat kering.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sulfaguanidin.
- Periksa pada kromatogram yang diperoleh dalam uji senyawa sejenis. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- Larutkan 5 mg dalam 10 ml asam hidroklorida 1 M. Encerkan 1 ml larutan dengan air sampai volume 10 ml. Larutan memberikan reaksi amina aromatik primer.
- Suspensikan 0,1 g dalam 2 ml air, tambah 1 ml larutan  $\alpha$ -naftol dan 2 ml campuran air dan larutan natrium hipoklorit pekat dengan volume yang sama. Terbentuk warna merah.

**Larutan S.** Pada 2,5 g, tambah 40 ml air bebas karbon dioksida. Panaskan pada suhu  $70^{\circ}$ C selama 5 menit. Dinginkan dalam air es selama 15 menit, saring dan encerkan dengan air bebas karbon dioksida sampai batas volume 50 ml.

**Keasaman.** Pada 20 ml larutan S, tambah 0,1 ml larutan bromotimol biru. Tidak lebih dari 0,2 ml natrium hidroksida 0,1 M yang diperlukan untuk mengubah warna indikator.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 50 mg zat uji dalam aseton sampai volume 5 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 2 ml larutan uji (a) dengan aseton sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar sulfaguanidin dalam aseton sampai volume 5 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5 ml larutan uji (b) dalam aseton sampai batas volume 200 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 5 ml larutan standar (b) dengan aseton sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan dan encerkan 10 mg sulfanilamid dalam larutan uji (b) sampai volume 5 ml.

**Fase gerak.** Campur 10 volume asam format anhidrat, 20 volume metanol dan 70 volume metilen klorida.

Totolkan 10  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu  $105^{\circ}$ C. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), selain bercak utama, tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%) dan bercak paling banyak lebih kuat intensitasnya dibandingkan terhadap bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,25%). Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (d) menunjukkan dua bercak utama yang terpisah.

**Logam berat.** Pada 1,0 g memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 8,0%. Pada pengeringan dengan suhu  $105^{\circ}$ C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,0 g.

### Penetapan kadar

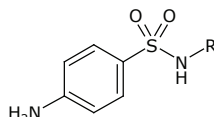
Lakukan penetapan amino-nitrogen aromatik primer, menggunakan larutan uji: Larutkan 0,175 g zat uji dalam 50 ml asam hidroklorida encer atau pelarut yang sesuai dan tambah 3 g kalium bromida. Dinginkan dalam air es. Titrasi dengan natrium nitrit 0,1 M. Tentukan titik akhir secara elektrometrik.

Setiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 21,42 mg  $C_7H_{10}N_4O_2S$ .

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Ketidakhurnian



A. R = H: 4-aminobenzenesulfonamida (sulfanilamida).

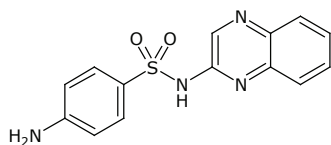
B. R = CO-NH<sub>2</sub>: N-[(4-aminofenil)sulfonil]urea (sulfa karbamida).

### Khasiat

Anti-bakteri.

## Sulfakuinoksalin

*Sulfaquinoxaline*



$C_{14}H_{12}N_4O_2S$

BM: 300,3

[59-40-5]

### Definisi

Sulfakuinoksalin adalah N<sup>1</sup>-kuinoksalin-2-ilsulfanilamid.

Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari  $C_{14}H_{12}N_4O_2S$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kuning.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air dan eter, sangat sukar larut dalam etanol (96%). Larut dalam larutan alkali encer.

### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sulfakuinoksalin.
- Serapan cahaya, pada panjang gelombang 230—350 nm. Serapan maksimum pada panjang gelombang 252 nm untuk larutan 0,001% b/v dalam natrium hidroksida 0,01 M sekitar 1,1.
- Larutkan 4 mg dalam 2 ml asam hidroklorida 2 M hangat. Terbentuk endapan merah jingga.

**Keasaman.** Pada 2,0 g, tambah 100 ml air. Panaskan pada suhu 70°C selama 5 menit. Dinginkan sampai suhu 20°C dan saring. Lakukan titrasi sampai pH 7,0, tidak lebih dari 0,2 ml natrium hidroksida 0,1 M.

**Logam berat.** Larutkan residu yang diperoleh dalam uji abu sulfat dalam 1 ml asam hidroklorida 2 M dan encerkan dengan air sampai volume 14 ml. Pada 12 ml larutan memenuhi uji batas logam berat. Gunakan larutan standar timbal (2 ppm Pb) dari standar (20 ppm).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel F<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campuran 20 volume amoniak 18 M, 40 volume metanol dan 60 volume kloroform.

**Larutan (1).** Larutkan 0,4 g zat uji dalam 4 ml natrium hidroksida 1 M dan encerkan dengan metanol sampai batas volume 100 ml.

**Larutan (2).** 0,012% b/v standar N<sup>1</sup>,N<sup>2</sup>-dikuinoksalin-2-ilsulfanilamid dalam metanol.

**Larutan (3).** 0,0040% b/v sulfanilamid dalam metanol.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak

lain pada N<sup>1</sup>,N<sup>2</sup>-dikuinoksalin-2-ilsulfanilamid pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (3%). Bercak lain selain bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan yang diperoleh dengan larutan (3) (1%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1,5 g dan pijarkan pada suhu 600°C.

### Penetapan kadar

Larutkan 0,65 g dalam 10 ml campuran natrium hidroksida 1 M dan air dengan volume yang sama. Tambah 20 ml gliserol, 20 ml asam sulfat 9 M dan 5 g kalium bromida dan dinginkan dalam es. Titrasi dengan natrium nitrat 0,1 M dan tentukan titik akhir secara elektrometrik. Setiap ml natrium nitrat 0,1 M setara dengan 30,03 mg  $C_{14}H_{12}N_4O_2S$ .

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Khasiat

Koksidostat.

## Sulfakuinoksalin Larutan Oral

### Definisi

Sulfakuinoksalin larutan oral mengandung sulfakuinoksalin dalam pembawa yang sesuai.

Larutan oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan larutan oral dan persyaratan berikut:

Mengandung sulfakuinoksalin tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 1000 volume etil asetat, 200 volume metanol dan 15 volume 13,5 M amonia.

**Larutan (1).** Sediaan 3% b/v dalam aseton 20% dalam air.

**Larutan (2).** Standar diaveridin 0,02% b/v dalam aseton 20% dalam air.

**Larutan (3).** Standar sulfakuinoksalin 0,11% b/v dalam aseton 20% dalam air.

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan sinar ultraviolet (254 nm). Bercak yang diperoleh dengan larutan (1) menunjukkan 2 bercak yang terpisah dan mempunyai nilai R<sub>f</sub> yang sesuai dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) dan (3).

**Penetapan kadar**

Sediaan setara dengan 0,125 g sulfakuinoksalin, tambah 20 ml natrium hidroksida 0,1 M, aduk. Ekstraksi 4 kali, masing-masing dengan 50 ml kloroform. Bilas ekstrak kloroform 2 kali, masing-masing dengan 10 ml natrium hidroksida 0,1 M. Fase kloroform untuk penetapan diaveridin dan fase air untuk penetapan sulfakuinoksalin.

**Sulfakuinoksalin.** Lakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Pada fase air, tambah air sampai batas volume 250 ml, saring. Pada 10 ml hasil saringan, encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml. Pada 2 ml, tambah 0,5 ml asam klorida 4 M, 1 ml larutan natrium nitrit 0,1% b/v, biarkan 2 menit, tambah 1 ml larutan amonium sulfamat 0,5% b/v, biarkan selama 3 menit, tambah 1 ml larutan N-(1-naftol)etan-1,2-diamonium dihidroklorida 0,1% b/v dan biarkan selama 10 menit. Tambah air sampai volume 25 ml. Ukur pada panjang gelombang maksimum 545 nm, menggunakan larutan blanko air yang diproses sama seperti cara diatas dimulai dari "pada 2 ml tambah dengan berurutan...".
2. Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Pada fase air, tambah air sampai batas volume 250 ml, saring. Pada 10 ml hasil saringan, encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml. Pada 2 ml tambah air sampai volume 25 ml. Ukur pada panjang gelombang 254 nm.

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup kedap dan terlindung dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Sulfakuinoksalin dan Diaveridin Serbuk Oral

**Definisi**

Sulfakuinoksalin dan diaveridin serbuk oral mengandung sulfakuinoksalin dan diaveridin.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut:

Mengandung sulfakuinoksalin dan diaveridin, masing-masing dengan tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 1000 volume etil asetat, 200 volume metanol dan 15 volume 13,5 M amonia.

**Larutan (1).** Sediaan 3% b/v dalam aseton 20% dalam air.

**Larutan (2).** Standar diaveridin 0,02% b/v dalam aseton 20% dalam air.

**Larutan (3).** Standar sulfakuinoksalin 0,11% b/v dalam aseton 20% dalam air.

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan sinar ultraviolet (254 nm). Bercak yang diperoleh dengan larutan (1) menunjukkan 2 bercak yang terpisah dan mempunyai nilai R<sub>f</sub> yang sesuai dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (3) dan (2).

**Penetapan kadar**

Sediaan setara dengan 0,125 g sulfakuinoksalin, tambah 20 ml natrium hidroksida 0,1 M, aduk. Ekstraksi 4 kali, masing-masing dengan 50 ml kloroform. Bilas ekstrak kloroform 2 kali, masing-masing dengan 10 ml natrium hidroksida 0,1 M. Fase kloroform untuk penetapan diaveridin dan fase air untuk penetapan sulfakuinoksalin.

**Sulfakuinoksalin.** Lakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Pada fase air, tambah air sampai batas volume 250 ml, saring. Pada 10 ml hasil saringan, encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml. Pada 2 ml, tambah 0,5 ml asam klorida 4 M, 1 ml larutan natrium nitrit 0,1% b/v, biarkan 2 menit, tambah 1 ml larutan amonium sulfamat 0,5% b/v, biarkan selama 3 menit, tambah 1 ml larutan N-(1-naftol)etan-1,2-diamonium dihidroklorida 0,1% b/v dan biarkan selama 10 menit. Tambah air sampai volume 25 ml. Ukur pada panjang gelombang maksimum 545 nm, menggunakan larutan blanko air yang diproses sama seperti cara diatas dimulai dari "pada 2 ml tambah dengan berurutan...".
2. Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Pada fase air, tambah air sampai batas volume 250 ml, saring. Pada 10 ml hasil saringan, encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml. Pada 2 ml tambah air sampai volume 25 ml. Ukur pada panjang gelombang 254 nm

**Diaveridin.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Bilas ekstrak kloroform 4 kali, masing-masing dengan 50 ml asam asetat 1 M. Bilas ekstrak asam dengan 5 ml kloroform. Encerkan lapisan air sampai volume 250 ml. Encerkan 20 ml dengan air sampai volume 100 ml. Ukur pada panjang gelombang 276 nm.

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup kedap dan terlindung dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.



## Sulfakuinoksalin dan Pirimetamin Larutan Oral

### Definisi

Sulfakuinoksalin dan pirimetamin larutan oral mengandung sulfakuinoksalin natrium dan diaveridin dalam pembawa yang sesuai.

Larutan oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan larutan oral dan persyaratan berikut:

Mengandung sulfakuinoksalin dan pirimetamin, masing-masing tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 1000 volume etil asetat, 200 volume metanol dan 15 volume 13,5M amonia.

**Larutan (1).** Sediaan 3% b/v dalam aseton (20% dalam air).

**Larutan (2).** Standar pirimetamin 0,02% b/v dalam aseton (20% dalam air).

**Larutan (3).** Standar sulfakuinoksalin 0,11% b/v dalam aseton 20% dalam air.

Totolkan 10 µl secara terpisah dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan sinar ultraviolet (254 nm). Bercak yang diperoleh dengan larutan (1) menunjukkan 2 bercak yang terpisah dan mempunyai nilai R<sub>f</sub> yang sesuai dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (3) dan (2).

**Kebasaan.** pH 9,0—10,5.

### Penetapan kadar

**Sulfakuinoksalin.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Sediaan setara 2 g sulfadiazin, tambah 50 ml natrium hidroksida 0,1 M, kemudian ekstraksi 2 kali masing-masing dengan 100 ml dan 50 ml kloroform. Bilas ekstrak dengan 25 ml natrium hidroksida 0,1 M. Lapisan kloroform untuk uji trimetoprim. Encerkan fase air dengan air sampai batas volume 250 ml dan saring. Pada 5 ml hasil saringan, encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml. Pada 10 ml larutan, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml (larutan A). Larutan A untuk penetapan kadar sebagai berikut:

- Pada 3 ml larutan A, tambah 1 ml asam klorida 2 M dan 1 ml 0,1% natrium nitrit, biarkan selama 2 menit, tambah 1 ml larutan 0,5% amonium sulfamat, biarkan selama 3 menit dan tambah 1 ml larutan 0,1% N-(1-naftil) etan-1-2-diamonium dihidroklorida. Biarkan selama 10 menit dan encerkan dengan air sampai batas volume 25 ml. Ukur pada panjang gelombang 538 nm.
- Pada 3 ml larutan A, tambah air sampai batas volume 25 ml. Ukur pada panjang gelombang 254 nm.

**Pirimetamin.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Ekstraksi lapisan kloroform 3 kali, masing-masing dengan 100 ml, 50 dan 50 ml asam asetat 1 M. Encerkan ekstrak dengan asam asetat 1 M sampai batas volume 500 ml. Pada 5 ml larutan, tambah 35 ml asam asetat 1 M dan air sampai batas volume 200 ml. Ukur serapan pada panjang gelombang 270 nm.

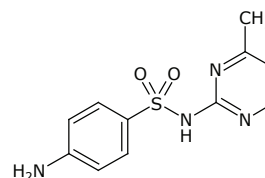
### Penyimpanan

Dalam wadah, tertutup kedap, steril dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Sulfamerazin *Sulfamerazine*



C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S

BM: 264,3

[127-79-7]

### Definisi

Sulfamerazin mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari 4-amino-N-(4-metil-2-pirimidinil)benzensulfonamid, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih, putih kekuningan.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air dan metilen klorida, agak sukar larut dalam aseton, sukar larut dalam alkohol. Larut dalam larutan alkali hidroksida dan asam mineral encer.

**Suhu lebur.** 235°C, dengan dekomposisi.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: B, C, D.

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sulfamerazin.
- Periksa pada kromatogram yang diperoleh dalam uji senyawa sejenis. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- Pada 3 g dalam tabung, basahi bagian bawah tabung dengan minyak silikon dan panaskan pada suhu 270°C. Zat uji ter-dekomposisi dan menyublim dengan terbentuk warna putih atau putih kekuningan, setelah rekristalisasi dari toluen dan keringkan pada suhu 100°C. Suhu lebur 157°—161°C.
- Larutkan 20 mg dalam 0,5 ml asam hidroklorida

1 M dan tambah 1 ml air. Terbentuk endapan merah atau jingga.

**Kejernihan larutan.** Larutkan 0,8 g dalam campuran 5 ml natrium hidroksida encer dan 5 ml air. Larutan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar Y<sub>4</sub>, BY<sub>4</sub> atau GY<sub>4</sub>.

**Keasaman.** Pada 1,25 g, tambah 25 ml air bebas karbon dioksida. Panaskan pada suhu 70°C selama 5 menit. Dinginkan dalam air es selama 15 menit dan saring. Pada 20 ml hasil saringan, tambah 0,1 ml larutan bromotimol biru. Tidak lebih dari 0,2 ml natrium hidroksida 0,1 M yang diperlukan untuk mengubah warna indikator.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam campuran 2 volume amoniak dan 48 volume metanol sampai volume 5,0 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan campuran 2 volume amoniak dan 48 volume metanol sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar sulfamerazin dalam campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai volume 5,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 2,5 ml larutan uji (b) dengan campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai batas volume 50 ml.

**Fase gerak.** Campur 3 volume amoniak encer, 5 volume air, 40 volume nitrometana dan 50 volume dioksan. Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 105°C. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), selain bercak utama, tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

**Logam berat.** Pada 1,0 g memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1 g.

#### Penetapan kadar

Lakukan penetapan amino-nitrogen aromatik primer, menggunakan larutan uji: Larutkan 0,25 g zat uji dalam 50 ml asam hidroklorida encer atau pelarut yang sesuai dan tambah 3 g kalium bromida. Dinginkan dalam air es. Titrasi dengan natrium nitrit 0,1 M. Tentukan titik akhir secara elektrometrik. Setiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 26,43 mg C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S.

#### Penyimpanan

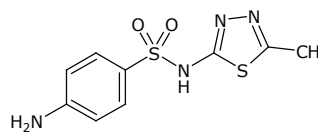
Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Anti-bakteri.

## Sulfametizol

*Sulfamethizole*



C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>

BM: 270,3

[144-82-1]

#### Definisi

Sulfametizol mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari 4-amino-N-(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il) benzen sulfonamid, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau putih kekuningan.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, larut dalam aseton, agak sukar larut dalam alkohol. Larut dalam larutan alkali hidroksida dan asam mineral encer.

**Suhu lebur.** 210°C.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: B, C, D.

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sulfametizol.
- Periksa pada kromatogram yang diperoleh dalam uji senyawa sejenis. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) adalah sama pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- Larutkan 50 mg dalam 4 ml metanol dan tambah 0,2 ml tembaga asetat (40 g/l). Terbentuk endapan hijau tua.
- Larutkan dan encerkan 5 mg dalam ml asam hidroklorida 1 M sampai volume 10 ml. Terbentuk endapan merah atau jingga.

**Kejernihan larutan.** Larutkan 1,0 g dalam campuran 5 ml natrium hidroksida encer dan 5 ml air. Larutan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar Y<sub>5</sub>, BY<sub>5</sub> atau GY<sub>5</sub>.

**Keasaman.** Pada 1,25 g, tambah 25 ml air bebas karbon dioksida. Panaskan pada suhu 70°C selama 5 menit. Dinginkan dalam air es selama 15 menit dan saring. Pada 20 ml hasil saringan, tambah 0,1 ml larutan bromotimol biru. Tidak lebih dari 0,2 ml natrium hidroksida 0,1 M yang diperlukan untuk mengubah warna indikator.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,30 g zat uji dalam aseton sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan aseton sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 30 mg standar sulfametizol dalam aseton sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (b) dengan aseton sampai volume 20 ml.

**Fase gerak.** Campur 15 volume metanol dan 80 volume kloroform.

Totolkan 2 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 105°C. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), selain bercak utama, tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

**Logam berat.** Pada 1,0 g memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.Gunakan 1 g.

#### Penetapan kadar

Lakukan penetapan amino-nitrogen aromatik primer, menggunakan larutan uji: Larutkan 0,25 g zat uji dalam 50 ml asam hidroklorida encer atau pelarut yang sesuai dan tambah 3 g kalium bromida. Dinginkan dalam air es. Titrasi dengan natrium nitrit 0,1 M. Setiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 27,03 mg C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>.

#### Penyimpanan

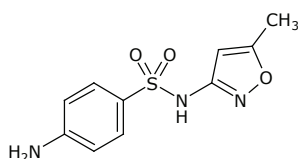
Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Anti-bakteri.

## Sulfametoksazol

*Sulfamethoxazole*



C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S

BM: 253,3

[723-46-6]

#### Definisi

Sulfametoksazol adalah 4-amenito-N-(5-metilisoksazol-3-il)benzensulfonamid.

Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam aseton, agak sukar larut dalam etanol (96%).

Larut dalam larutan natrium hidroksida dan asam encer.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: A, C, D.

A. Suhu lebur 169°—172°C.

B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sulfametoksazol.

C. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 20 mg zat uji dalam campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai volume 5,0 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 20 mg standar sulfametoksazol dalam campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai volume 5,0 ml.

**Lempeng.** Silika gel F<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur amoniak encer, air, nitrometana, dioksan (3:5:41:51 v/v/v/v).

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 105°C. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji adalah sama pada tempat dan ukuran terhadap bercak yang diperoleh dengan larutan standar.

D. Larutkan 5 mg dalam 10 ml asam hidroklorida 1 M. Encerkan 1 ml larutan dengan air sampai volume 10 ml. Terbentuk endapan merah atau jingga.

**Kejernihan larutan.** Larutkan 1,0 g dalam campuran 5 ml natrium hidroksida encer dan 5 ml air. Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar Y<sub>5</sub>, BY<sub>5</sub> atau GY<sub>5</sub>.

**Keasaman.** Pada 1,25 g, tambah 25 ml air. Panaskan pada suhu 70°C selama 5 menit. Dinginkan dalam air es selama 15 menit dan saring. Pada 20 ml hasil saringan, tambah 0,1 ml larutan bromotimol biru. Tidak lebih dari 0,3 ml natrium hidroksida 0,1 M yang diperlukan untuk mengubah warna indikator.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 50,0 mg zat uji dalam 45 ml fase gerak, sonikasikan pada suhu 45°C selama 10 menit, dinginkan dan encerkan dengan fase gerak sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai volume 10,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan 1 mg zat uji dan 1 mg standar sulfametoksazol ketidakh murnian A dalam fase gerak sampai volume 10,0.

**Larutan standar (c).** Larutkan 1,0 mg standar sulfametoksazol ketidakh murnian F dalam fase gerak sampai

volume 10,0. Encerkan 1,0 ml larutan dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktasilil 5 µm, ukuran 25 cm x 4,0 mm atau yang sesuai, suhu 30°C.

**Fase gerak.** Campuran 35 volume metanol dan 65 volume kalium dihidrogen fosfat (13,6 g/l, atur pH 5,3 dengan kalium hidroksida 20 g/l).

**Laju alir.** 0,9 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 210 nm.

**Injek.** 20 µl.

**Waktu uji.** 3 kali waktu tambat sulfametoksazol.

**Waktu tambat relatif.** Standar sulfametoksazol sekitar 10 menit, ketidakhurnian D sekitar 0,3, ketidakhurnian E sekitar 0,35, ketidakhurnian F sekitar 0,45, ketidakhurnian C sekitar 0,5, ketidakhurnian A sekitar 1,2, ketidakhurnian B sekitar 2,0.

**Kesesuaian sistem larutan standar (b).** Resolusi minimum 3,5 antara puncak sulfametoksazol dan ketidakhurnian A.

#### Batas

**Ketidakhurnian A, B, C, D, E.** Untuk setiap ketidakhurnian, tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,1%).

**Ketidakhurnian F.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,1%).

**Ketidakhurnian lain.** Untuk setiap ketidakhurnian, tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,1%).

**Total.** Tidak lebih dari 3 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,3%).

**Abaikan batas.** 0,25 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,025%).

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Pada 1,0 g memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5% pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1 g.

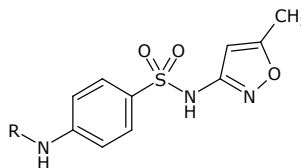
#### Penetapan kadar

Lakukan penetapan amino-nitrogen aromatik primer, menggunakan larutan uji: Larutkan 0,2 g zat uji dalam 50 ml asam hidroklorida encer atau pelarut yang sesuai dan tambah 3 g kalium bromida. Dinginkan dalam air es. Titrasi dengan natrium nitrit 0,1 M. Tentukan titik akhir secara elektrometrik. Setiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 25,33 mg C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S.

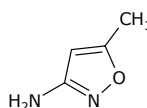
#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

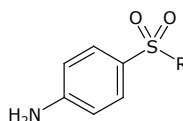
#### Ketidakhurnian



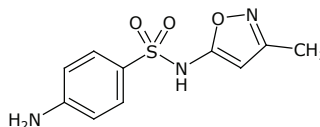
- A. R = CO-CH<sub>3</sub>: N-[4-[(5-metilisoksazol-3-il) sulfamoil]fenil]asetamida.  
 B. R = SO<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-pNH<sub>2</sub>: 4-[[4-amino fenil)sulfonil] amino]-N-(5-metilisoksazol-3-il)benzena sulfonamida.



- C. 5-metilisoksazol-3-amina.



- D. R = OH: Asam 4-aminobenzena sulfonat (asam sulfanilat).  
 E. R = NH<sub>2</sub>: 4-aminobenzena sulfonamida (sulfanilamida).



- F. 4-amino-N-(3-metilisoksazol-5-il)benzena sulfonamida.

#### Khasiat

Anti-bakteri.

### Sulfametoksazol dan Trimetoprim Suspensi Oral

#### Definisi

Sulfametoksazol dan trimetoprim suspensi oral adalah suspensi yang mengandung sulfametoksazol dan trimetoprim dalam pembawa yang sesuai.

Suspensi oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan larutan oral dan persyaratan berikut:

Mengandung sulfametoksazol dan trimetoprim, masing-masing tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

- A. Sediaan setara dengan 50 mg trimetoprim tambah 30 ml natrium hidroksida 0,1 M dan ekstraksi 4 kali masing-masing dengan 50 ml kloroform. Bilas ekstrak 2 kali masing-masing dengan 10 ml natrium hidroksida 0,1 M dan ekstrak 2 kali dengan 50 ml kloroform. Bilas ekstrak kloroform 2 kali dengan masing-masing 10 ml natrium hidroksida 0,1 M kemudian dengan 10 ml air. Campur dengan 5 g natrium sulfat anhidrat, saring dan evaporasi sampai kering menggunakan rotavapor. Spektrum

serapan inframerah dari residu sesuai dengan spektrum serapan standar trimetoprim.

- B. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 100 volume kloroform, 10 volume metanol dan 5 volume dimetilformamida.

**Larutan (1).** Pada 5 ml suspensi, tambah 20 ml metanol, campur dan aduk dengan 10 g natrium sulfat anhidrat, sentrifus dan gunakan supernatan.

**Larutan (2).** Standar sulfametoksazol 2,0% b/v dalam metanol.

**Larutan (3).** Standar trimetoprim 0,4% b/v dalam metanol.

Totolkan 5 µl secara terpisah dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan dengan udara. Semprot dengan kalium iodobismutat encer. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) menunjukkan 2 bercak utama yang sesuai dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) dan (3).

**Keasamam.** pH 5,0—6,5.

#### Penetapan kadar

**Sulfametoksazol.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Sediaan setara dengan 2 g sulfadiazin, tambah 50 ml natrium hidroksida 0,1 M, ekstraksi 2 kali masing-masing dengan 100 ml dan 50 ml kloroform. Bilas ekstrak dengan 25 ml natrium hidroksida 0,1 M. Lapisan kloroform untuk uji trimetoprim. Encerkan fase air dengan air sampai batas volume 250 ml dan saring. Pada 5 ml hasil saringan, encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml. Pada 10 ml larutan, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml (larutan A). Larutan A untuk penetapan kadar sebagai berikut:

1. Pada 3 ml larutan A, tambah 1 ml asam klorida 2 M dan 1 ml 0,1% natrium nitrit, biarkan selama 2 menit, tambah 1 ml larutan 0,5% amonium sulfamat, biarkan selama 3 menit dan tambah 1 ml larutan 0,1% N-(1-naftil) etan-1-2-diamonium dihidroklorida. Biarkan selama 10 menit dan encerkan dengan air sampai batas volume 25 ml. Ukur pada panjang gelombang 538 nm.
2. Pada 3 ml larutan A, tambah air sampai volume 25 ml. Ukur serapan pada panjang gelombang 254 nm.

**Trimetoprim.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Ekstraksi lapisan kloroform 3 kali, masing-masing dengan 100 ml, 50 dan 50 ml larutan asam asetat 1 M. Encerkan ekstrak dengan asam asetat 1 M sampai batas volume 500 ml. Pada 5 ml larutan, tambah 35 ml asam asetat 1 M dan air sampai batas volume 200 ml. Ukur pada panjang gelombang 271 nm.

#### Penyimpanan

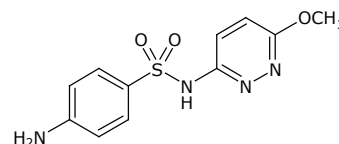
Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Sulfametokspiridazin

*Sulfamethoxy pyridazine*



$C_{11}H_{12}N_4O_3S$

BM: 280,3

[80-35-3]

#### Definisi

Sulfametokspiridazin mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari 4-amino-N-(6-metoksipiridazin-3-il) benzen sulfonamida, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau sedikit kuning.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air sukar larut dalam aseton dan sedikit larut dalam alkohol. Sangat sukar larut dalam metilen klorida. Larut dalam larutan alkali dan asam encer

**Suhu lebur.** 180°C, dengan terdekomposisi.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: B, C, D

- A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sulfametokspiridazin.
- B. Periksa kromatogram yang diperoleh pada uji senyawa sejenis. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (1) sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- C. Larutkan 0,5 g dalam 1 ml asam sulfat 40% V/V, panaskan. Lanjutkan pemanasan sampai terlihat endapan kristal (sekitar 2 menit). Dinginkan dan tambah 10 ml natrium hidroksida encer. Dinginkan kembali, tambah 25 ml eter dan aduk selama 5 menit. Biarkan lapisan eter terpisah., keringkan dengan natrium sulfat anhidrat dan saring. Uapkan fase eter di dalam penangas air. Residu minyak yang diperoleh menjadi kristal dengan pendinginan; Suhu lebur 102°—106°C.
- D. Larutkan sekitar 5 mg dalam 10 ml asam hidroklorida 1 M. Encerkan 1 ml dengan air sampai volume 10 ml. Terbentuk endapan merah atau jingga.

**Kejernihan larutan.** Larutkan 1,0 g dalam campuran 10 ml natrium hidroksida 1 M dan 15 ml air. Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan dengan larutan standar  $Y_4$  atau  $BY_4$ .

**Keasaman.** Pada 1,25 g, tambah 25 ml air bebas

karbondioksida. Panaskan pada suhu 70°C selama 5 menit. Dinginkan dalam es selama 15 menit dan saring. Pada 20 ml hasil saringan, tambah 0,1 ml bromotimol biru. Tidak lebih dari 0,5 ml natrium hidroksida 0,1 M diperlukan untuk merubah warna indikator.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silica gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 1 volume amonia encer, 9 volume air, 30 volume 2-propanol dan 50 volume etil asetat.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dengan aseton sampai volume 5 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan aseton sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar sulfametoksipiridazin dengan aseton sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 2,5 ml larutan uji (b) dengan aseton sampai volume 50 ml.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 100°–105°C. Periksa dengan sinar ultraviolet (254 nm). Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), yang merupakan bagian bercak utama, tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan dengan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

**Logam berat.** Pada 1,0 g, memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan 2 ml timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.Gunakan 1 g.

### Penetapan kadar

Lakukan penetapan amino-nitrogen aromatik primer, menggunakan larutan uji: Larutkan 0,25 g zat uji dalam 50 ml asam hidroklorida encer atau pelarut yang sesuai dan tambah 3 g kalium bromida. Dinginkan dalam air es dan titrasi dengan natrium nitrit 0,1 M. Tentukan titik akhir secara elektrometrik. Setiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 28,03 mg C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S.

### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Khasiat

Anti-bakteri.

## Sulfametoksipiridazin Injeksi

### Definisi

Sulfametoksipiridazin injeksi adalah larutan steril sulfametoksipiridazin natrium dalam air untuk injeksi atau dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut:

Mengandung sulfametoksipiridazin tidak kurang dari

90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

Asamkan sediaan dengan asam asetat 6 M, campur endapan dengan bantuan sonikator dan saring. Bilas residu dengan air dan keringkan pada suhu 105°C. Kristalkan kembali dari etanol (96%). Residu memenuhi uji berikut:

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sulfametoksipiridazin.
- Larutkan sekitar 5 mg dalam 10 ml asam hidroklorida 1 M. Encerkan 1 ml dengan air sampai volume 10 ml. Terbentuk endapan merah atau jingga.

**Kebasaan.** pH 9,7–10,3.

**Kejernihan larutan.** Sediaan setara dengan 1 g sulfametoksipiridazin dalam 4 ml, tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan dengan warna standar BY<sub>1</sub>.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 1 volume amonia 6 M, 9 volume air, 30 volume propan-2-ol dan 50 volume etil asetat.

**Larutan (1).** Asamkan sediaan setara 0,5 g sulfametoksipiridazin dengan asam asetat 6 M, campur endapan dengan bantuan sonikator dan saring. Keringkan residu pada suhu 100°C dan larutkan dalam 25 ml aseton.

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan (1) dengan aseton sampai 200 volume.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan dengan suhu 100°–105°C. Periksa dengan sinar ultraviolet (254 nm). Bercak kedua pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (0,5%).

### Penetapan kadar

Larutkan sediaan setara dengan 0,5 g sulfametoksipiridazin dalam campuran 75 ml air dan 10 ml asam hidroklorida, tambah 3 g kalium bromide dan dinginkan dalam es. Titrasi dengan natrium nitrit 0,1 M. Tentukan titik akhir secara elektrometrik. Setiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 28,03 mg C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S.

### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Sulfametoksipiridazin Tablet

### Definisi

Sulfametoksipiridazin tablet mengandung sulfametoksipiridazin dalam pembawa yang sesuai.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut.

Mengandung sulfametoksipiridazin tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%  $C_{11}H_{12}N_4O_3S$  dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Identifikasi

- Panaskan sediaan setara dengan 1,5 g sulfametoksipiridazin dengan 30 ml aseton dalam refluks kondensor selama 5 menit, saring, uapkan hasil saringan sampai 10 ml di atas penangas air, tambah 40 ml air dan lanjutkan pemanasan selama 15 menit. Dinginkan dalam es dan saring. Bilas residu dengan air, panaskan pada suhu 105°C. Suhu lebur 181°C.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan serapan sulfametoksipiridazin standar.
- Larutkan sekitar 5 mg dalam 10 ml asam hidroklorida 1 M. Encerkan 1 ml dengan air sampai volume 10 ml. Larutan menunjukkan reaksi aromatik amin primer dan menghasilkan endapan berwarna jingga terang.
- Periksa kromatogram yang diperoleh larutan uji pada uji senyawa sejenis. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- Larutkan 0,5 g dalam 1 ml asam sulfat 40% b/v, panaskan. Lanjutkan pemanasan sampai terlihat endapan kristal (sekitar 2 menit). Dinginkan, tambah 10 ml natrium hidroksida encer, 25 ml eter dan aduk selama 5 menit. Pisahkan fase eter dan saring melalui natrium sulfat anhidrat. Uapkan di atas penangas air. Residu kental yang diperoleh menjadi kristal dengan pendinginan. Suhu lebur 102°—106°C.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 1 volume amonia 6 M, 9 volume air, 30 volume propan-2-ol dan 50 volume etil asetat.

**Larutan (1).** Asamkan sediaan setara 0,5 g sulfametoksipiridazin dengan asam asetat 6 M, campur endapan dengan bantuan sonikator dan saring. Keringkan residu pada suhu 100°C dan larutkan dalam 25 ml aseton.

**Larutan (2).** Encerkan 1 volume larutan (1) dengan aseton sampai 200 volume.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan dengan suhu 100°—105°C. Periksa dengan sinar ultraviolet (254 nm). Bercak kedua pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat intensitasnya

dibandingkan dengan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (0,5%).

### Penetapan kadar

Lakukan dengan salah satu metode berikut:

- Larutkan sediaan setara dengan 0,5 g sulfametoksipiridazin dalam campuran 75 ml air dan 10 ml asam hidroklorida, tambah 3 g kalium bromide dan dinginkan dalam es. Titrasi dengan natrium nitrit 0,1 M. Tentukan titik akhir secara elektrometrik. Setiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 28,03 mg  $C_{11}H_{12}N_4O_3S$ .
- Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan sediaan dan standar yang dilarutkan dengan natrium hidroksida 0,1 M. Ukur pada panjang gelombang 254 nm

### Penyimpanan

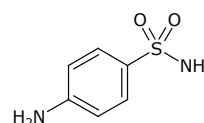
Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Sulfanilamid

### Sulfanilamide



$C_6H_8N_2O_2S$

BM: 172,2

[63-74-1]

### Definisi

Sulfanilamid mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari 4-aminobensensulfonamid, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau putih kekuningan.

**Kelarutan.** Sukar larut dalam air, mudah larut dalam aseton, agak sukar larut dalam alkohol, praktis tidak larut dalam metilen klorida. Larut dalam alkali hidroksida dan asam mineral encer.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: B.

Identifikasi kedua: A, C, D.

- Suhu lebur 164,5°—166,0°C.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sulfanilamid.
- Pada kromatogram yang diperoleh untuk uji senyawa sejenis. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a) sesuai tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- Larutkan 5 mg dalam 10 ml asam hidroklorida 1 M.

Encerkan 1 ml sampai 10 ml dengan air. Terbentuk endapan merah atau jingga.

**Larutan S.** Pada 2,5 g, tambah 50 ml air bebas karbon dioksida. Panaskan pada suhu 70°C selama 5 menit. Dinginkan dalam air es selama 15 menit dan saring.

**Keasaman.** Pada 20 ml larutan S, tambah 0,1 ml bromotimol biru. Tidak lebih dari 0,2 ml natrium hidroksida 0,1 M diperlukan untuk mengubah warna dari indikator.

**Senyawa sejenis.** Lakukan kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel F<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 20 mg zat uji dalam 3 ml campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai volume 5 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan dan encerkan 0,10 g zat uji dalam 0,5 ml amoniak pekat dengan metanol sampai volume 5 ml. Jika larutan tidak jernih, panaskan sampai jernih.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar sulfanilamid dalam 3 ml campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai volume 5 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,25 ml larutan uji (a) dengan campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 20 mg zat uji dan 20 mg standar sulfamerazin dalam campuran 2 volume amoniak pekat dan 48 volume metanol sampai volume 5 ml.

**Fase gerak.** Campur 3 volume amoniak encer, 5 volume air, 40 volume nitrometan dan 50 volume dioksan.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 105°C. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b), tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%). Uji tidak absah kecuali jika, kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) menunjukkan dua bercak utama yang terpisah.

**Logam berat.** Pada 12 ml larutan S, memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan standar Pb (1 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.Gunakan 1 g.

#### Penetapan kadar

Lakukan penetapan amino-nitrogen aromatik primer, menggunakan larutan uji: Larutkan 0,14 g zat uji dalam 50 ml asam hidroklorida encer atau pelarut yang sesuai dan tambah 3 g kalium bromida. Dinginkan dalam air es. Titrasi dengan natrium nitrit 0,1 M. Tentukan titik

akhir secara elektrometrik. Setiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 17,22 mg C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S.

#### Penyimpanan

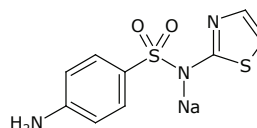
Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Anti-bakteri.

## Sulfatiazol Natrium

### *Sulfathiazole Sodium*



C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> N <sub>3</sub> NaO <sub>2</sub> S <sub>2</sub> · 1½H <sub>2</sub> O	BM: 304,3	[144-74-1]
C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> N <sub>3</sub> NaO <sub>2</sub> S <sub>2</sub> · 5H <sub>2</sub> O	BM: 367,4	[6791-71-5]

#### Definisi

Sulfatiazol natrium adalah garam natrium hidrat dari N1-tiasol-2-ilsulfanilamid seskui hidrat atau penta-hidrat.

Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau putih kekuningan.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air dan larut dalam etanol (96%).

#### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sulfatiazol natrium.
- Larutkan 1 g dalam air sampai batas volume 25 ml dan tambah 2 ml asam asetat 6 M. Bilas endapan dengan air, keringkan pada suhu 105°C selama 4 jam, Suhu lebur 201°C.
- Terbentuk endapan warna merah atau jingga yang diperoleh dari uji B.

**Kebasaan.** pH 9,0—10,0. Larutan yang mengandung 1,0% b/v zat anhidrat.

**Logam berat.** Larutkan 2,5 g zat anhidrat sampai 10 ml dengan air, tambah 15 ml asam asetat 2 M, aduk selama 30 menit dan saring. Pada 12 ml larutan memenuhi uji batas logam berat. Gunakan standar Pb (2 ppm Pb).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel H atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 18 volume amoniak 10 M dan 90 volume butanol.

**Larutan (1).** Zat uji 1,0% b/v dalam campuran 1 volume amoniak 13,5 M dan 9 volume etanol (96%).

**Larutan (2).** Sulfanilamid 0,0050% b/v dalam campuran 1 volume amoniak 13,5 M dan 9 volume etanol (96%).

Totolkan 10 µl secara terpisah dari setiap larutan.



Angkat lempeng dan panaskan pada suhu 105°C selama 10 menit. Semprot dengan larutan 0,1% b/v dari 4-dimetilamino benzaldehid dalam etanol (96%) yang mengandung asam hidroklorida 1% v/v. Bercak kedua pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (0,5%).

**Susut pengeringan.** Tidak kurang dari 6% dan tidak lebih dari 10%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,5 g dalam campuran 75 ml air dan 10 ml asam hidroklorida tambahkan 3 g kalium bromida, dinginkan dengan es. Titrasi secara pelan-pelan dengan natrium nitrit 0,1M, tentukan titik-akhir secara elektrometri. Setiap ml natrium nitrit 0,1M setara dengan 27,73 mg  $C_9H_8N_3NaO_2S_2$ .

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Anti-bakteri.

## Sulfatiazol Tablet

#### Definisi

Sulfatiazol tablet mengandung sulfatiazol natrium dalam pembawa yang sesuai.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut.

Mengandung sulfatiazol natrium tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sulfatiazol natrium.
- Larutkan 1 g dalam air sampai batas volume 25 ml dan tambah 2 ml asam asetat 6M. Bilas endapan dengan air, keringkan pada suhu 105°C selama 4 jam, Suhu lebur 201°C.
- Terbentuk endapan warna merah atau jingga yang diperoleh dari uji B.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis-tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel H atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 18 volume amoniak 10 M dan 90 volume butanol.

**Larutan (1).** Zat uji 1,0% b/v dalam campuran 1 volume amoniak 13,5M dan 9 volume etanol (96%).

**Larutan (2).** Sulfanilamid 0,0050% b/v dalam campuran 1 volume amoniak 13,5M dan 9 volume etanol (96%).

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan panaskan pada suhu 105°C selama 10 menit. Semprot dengan larutan 0,1% b/v dari 4-dimetilaminobenzaldehid dalam etanol (96%) yang mengandung asam hidroklorida 1%

v/v. Bercak kedua pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (0,5%).

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,5 g dalam campuran 75 ml air dan 10 ml asam hidroklorida tambahkan 3 g kalium bromida, dinginkan dengan es. Titrasi secara pelan-pelan dengan natrium nitrit 0,1M, tentukan titik-akhir secara elektrometri. Setiap ml natrium nitrit 0,1M setara dengan 27,73 mg  $C_9H_8N_3NaO_2S_2$ .

#### Penyimpanan

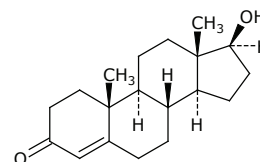
Dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Testosteron

*Testosterone*



$C_{19}H_{28}O_2$

BM: 288,4

[58-22-0]

#### Definisi

Testosteron adalah 17β-hidroksiandrost-4-en-3-on.

Mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih kekuningan atau tidak berwarna.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air dan minyak lemak, mudah larut dalam alkohol dan metilen klorida.

**Suhu lebur.** 155°C.

#### Identifikasi

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar testosteron.

**Rotasi jenis.** +106° sampai +114° (zat kering). Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam etanol sampai batas volume 25,0 ml.

**Ketidakhurnian D dan F.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 1 mg stanolon dalam metanol sampai volume 10 ml. Pada 1 ml larutan, larutkan 10 mg standar testosteron untuk identifikasi ketidakhurnian D (1%).

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan metanol sampai volume 100 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 2,0 ml larutan standar (b) dengan metanol sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (d).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (b) dengan metanol sampai volume 10,0 ml.

**Lempeng.** Silika gel F<sub>254</sub> (6-8 µm) atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur asam asetat, etanol, dioksan, metilen klorida (1:2:10:90 v/v/v/v).

Totolkan 2 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu ruang. Semprot dengan asam toluene sulfonat (200 g/l) dalam etanol dan panaskan pada suhu 105°C selama 10 menit. Periksa dengan cahaya ultraviolet (365 nm).

**Kesesuaian sistem.** Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) menunjukkan 3 bercak yang dengan terpisah, R<sub>f</sub> ketidakmurnian D sekitar 0,5, R<sub>f</sub> testosteron sekitar 0,65, R<sub>f</sub> ketidakmurnian F sekitar 0,7.

#### Batas

**Ketidakmurnian D.** Bercak lain pada ketidakmurnian D tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,2%).

**Ketidakmurnian F.** Bercak lain pada ketidakmurnian F tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (d) (0,1%).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam metanol sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 10 mg standar testosteron untuk kesesuaian sistem (mengandung ketidakmurnian C dan I) dalam 1 ml metanol.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan metanol sampai volume 20,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan metanol sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 2,0 ml larutan standar (b) dengan metanol sampai 10,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 40°C.

**Fase gerak A.** Air dan metanol (45:55 v/v).

**Fase gerak B.** Metanol.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0—4	100	0
4—24	100 → 60	0 → 40
24—53	60 → 0	40 → 100
53—55	0	100
55—56	0 → 100	100 → 0
56—75	100	0

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek.** 20 µl.

**Waktu tambat relatif.** Standar testosteron sekitar 18 menit, ketidakmurnian G sekitar 0,6, ketidakmurnian H sekitar 0,8, ketidakmurnian A sekitar 0,9, ketidakmurnian I sekitar 0,95, ketidakmurnian C sekitar 1,2, ketidakmurnian E sekitar 1,7, ketidakmurnian J sekitar 2,1, ketidakmurnian B sekitar 2,5.

**Kesesuaian sistem larutan standar (a).** Resolusi tidak kurang dari antara puncak ketidakmurnian I dan testosteron.

**Batas.** Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) untuk identifikasi puncak ketidakmurnian C dan I.

**Faktor koreksi.** Mengalikan area puncak ketidakmurnian I oleh 2,9.

**Ketidakmurnian C.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

**Ketidakmurnian I.** Tidak lebih dari 2 kali lebih area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,2%).

**Ketidakmurnian A, B, E, G, H, J.** Untuk setiap ketidakmurnian, tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,1%).

**Ketidakmurnian lain.** Untuk setiap ketidakmurnian, tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,1%).

**Total.** Tidak lebih dari 1,2 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,6%).

**Abaikan batas.** 0,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,05%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 0,5 g.

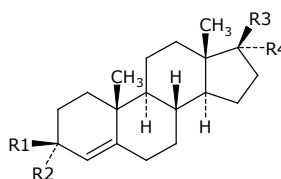
#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Larutkan dan encerkan 50,0 mg dalam alkohol sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 2,0 ml dengan alkohol sampai batas volume 100,0 ml. Ukur serapan maksimum pada panjang gelombang 241 nm.

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

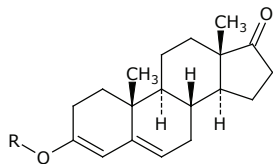
#### Ketidakmurnian



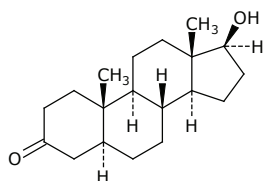
A. R<sub>1</sub> + R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> + R<sub>4</sub> = O: Androst-4-en-3,17-dion (androstenedion).

C. R<sub>1</sub> + R<sub>2</sub> = O, R<sub>3</sub> = H, R<sub>4</sub> = OH: 17a-hidroksandrosta-4-en-3-on (epitestosteron).

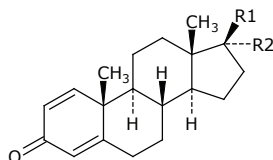
- D. R1 = R3 = OH, R2 = R4 = H: Androst-4-en-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol (D4-androstenediol).
- E. R1 + R2 = O, R3 = O-CO-CH<sub>3</sub>, R4 = H: 3-okso-androsta-4-en-17 $\beta$ -il asetat(testosteron asetat).



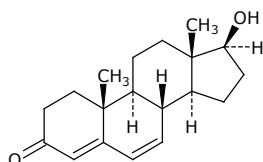
- B. R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>: 3-etoksiandrosta-3,5-dien-17-on (androstenedion etilenoleter).
- J. R = CH<sub>3</sub>: 3-metoksiandrosta-3,5-dien-17-on (androstenedion metilenoleter).



- F. 17 $\beta$ -hidroksi-5 $\alpha$ -androstan-3-on (androstanolon, stanolon).



- G. R1 + R2 = O: Androsta-1,4-dien-3,17-dion (androstadienedion).
- H. R1 = OH, R2 = H: 17 $\beta$ -hidroksiandrosta-1,4-dien-3-on (boldenon).



- I. 17 $\beta$ -hidroksiandrosta-4,6-dien-3-on(D6-testosteron).

**Khasiat**

Androgen, steroid anabolik.

dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol (96%).

**Identifikasi**

- A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar testosteron fenilpropionat. Jika spektrum tidak sesuai, larutkan zat uji dalam diklorometan, uapkan sampai mendekati kering. Periksa kembali spektrum serapan residu.
- B. Memenuhi uji identifikasi steroid, gunakan pelarut pencelup dan fase gerak F.
- C. Larutkan 25 mg dalam 1 ml metanol, tambah 2 ml larutan semikarbazid asetat, panaskan dalam refluks kondensor selama 30 menit dan dinginkan. Suhu lebur endapan 218°C.

**Suhu lebur.** 114°—117°C.

**Rotasi jenis.** Larutan 1% b/v dalam 1,4-dioksan adalah +86° sampai +91°, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%.

**Penetapan kadar**

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Larutkan dan encerkan 10 mg dalam etanol absolut, sampai batas volume 100 ml. Encerkan 5 ml dengan etanol absolut sampai batas volume 50 ml. Ukur serapan larutan pada panjang gelombang 240 nm. Hitung kadar dari C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>O<sub>3</sub> dengan 395 sebagai nilai A (1%, 1 cm).

**Penyimpanan**

Dilindungi dari cahaya.

**Khasiat**

Steroid anabolik, androgen.

**Testosteron Implan**

**Definisi**

Testosteron implan adalah silinder steril yang dibuat dengan cara fusi atau kempa testosteron fenilpropionat dan dapat mengandung pembawa yang sesuai.

Implan memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan injeksi dan persyaratan berikut:

Mengandung testosteron tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

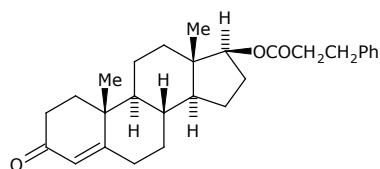
**Karakteristik**

**Pemerian.** Silinder putih.

**Diameter.** Berat kurang dari 50 mg: tidak kurang dari 2,0 mm dan tidak lebih dari 2,5 mm; Berat lebih

**Testosteron Fenilpropionat**

*Testosterone Phenylpropionate*



C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>O<sub>3</sub>

BM: 420,6

[1255-49-8]

**Definisi**

Testosteron fenilpropionat adalah 3-okso-andros-4-en-17 $\beta$ -il 3-fenilpropionat. Mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0% dari C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>O<sub>3</sub>,

dari 50 mg; tidak kurang dari 4,25 mm dan tidak lebih dari 4,75 mm.

**Berat.** Setiap implan mempunyai berat tidak kurang dari 95% dan tidak lebih dari 105% dari berat nominal yang ditetapkan.

#### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar testosteron.
- Memenuhi uji identifikasi steroid.
- Pada 0,1 g, tambah 3 ml larutan piridin anhidrat dan 0,6 ml asam asetat anhidrat, panaskan diatas penangas air selama 3 jam, tambah air sampai terbentuk kristal, tambah perlahan 15 ml air, biarkan sampai proses pengendapan sempurna. Bilas endapan dengan air sampai air bilasan netral terhadap merah metil. Tambah air sampai terbentuk kristal, panaskan pada suhu 105°C. Suhu lebur residu 140°C.

**Suhu lebur.** 152°—156°C.

**Rotasi jenis.** Larutan 1% b/v dalam etanol +106° sampai +112°.

**Kejernihan larutan.** Larutan 1% dalam etanol (96%) jernih dan tidak berwarna.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Sediaan setara dengan 10 mg testosteron, tambah etanol absolut sampai batas volume 100 ml. Pada 5 ml, encerkan dengan etanol absolut sampai volume 50 ml.

Ukur pada panjang gelombang 240 nm.

#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Testosteron Injeksi

#### Definisi

Testosteron injeksi adalah larutan steril yang mengandung testosteron fenilpropionat atau propionat dalam etil oleat atau ester lain dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

Larutkan sediaan setara dengan 50 mg testosteron propionat dalam 8 ml petroleum benzin (titik didih, 40°—60°C), ekstraksi dengan 8 ml campuran 7 volume asam asetat glasial dan 3 volume air. Bilas ekstrak dengan 10 ml petroleum benzin (titik didih, 40°—60°C), encerkan dengan air sampai larutan menjadi

keruh, diamkan selama 2 jam di atas es dan saring. Bilas endapan dengan air, keringkan pada suhu 105°C dan memenuhi uji:

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar testosteron propionat.
- Memenuhi uji identifikasi steroid, menggunakan larutan pengembang pelarut III dan fase gerak F.

**Suhu lebur.** 218°C.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Sediaan setara dengan 0,1 g testosteron propionat, tambah kloroform sampai batas volume 100 ml. Encerkan 3 ml larutan dengan kloroform sampai batas volume 50 ml. Pada 5 ml larutan, tambah 10 ml larutan isoniazid dan tambah metanol sampai 20 ml. Biarkan 45 menit. Periksa serapan pada panjang gelombang maksimum 380 nm, menggunakan larutan standar yang dengan perlakuan sama “dimulai dengan penambahan 5 ml kloroform.....”.

#### Penyimpanan

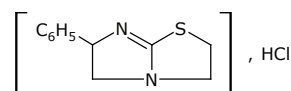
Dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Tetramisol Hidroklorida

*Tetramisole Hydrochloride*



$C_{11}H_{12}N_2S$ , HCl

BM: 240,8

[5086-74-8]

#### Definisi

Tetramisol hidroklorida adalah (RS)-2,3,5,6-tetrahidro-6-fenilimidazol[2,1-b]tiazol hidroklorida.

Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau krem.

**Kelarutan.** Larut dalam 5 volume air dan dalam 10 volume metanol, agak sangat larut dalam eter.

#### Identifikasi

- Memenuhi uji rotasi jenis.
- Spektrum serapan inframerah sama dengan spektrum serapan standar tetramisol hidroklorida.
- Memberikan reaksi klorida.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 50,0 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar Y<sub>7</sub>.

**pH.** Larutan S 3,0—4,5.

**Rotasi jenis.**  $-121^\circ$  sampai  $-128^\circ$  (zat kering). Gunakan larutan S.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 0,1 g zat uji dalam metanol, tambah 1,0 ml amoniak pekat dan encerkan dengan metanol sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 50 mg standar kesesuaian sistem tetramisol hidroklorida dalam metanol, tambah 1,0 ml amoniak pekat dan encerkan dengan metanol sampai volume 5,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan metanol sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 5,0 ml larutan dengan metanol sampai batas volume 25,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil (basa tidak aktif) 3  $\mu\text{m}$ , ukuran 10 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak A.** Larutkan 0,5 g amonium dihidrogen fosfat dalam 90 ml air, atur pH 6,5 dengan natrium hidroksida (40 g/l) dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Fase gerak B.** Asetonitril.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0—8	90 → 30	10 → 70
8—10	30	70
10—11	30 → 90	70 → 10

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 215 nm.

**EkUILIBRASI.** Sedikitnya 4 menit dengan komposisi fase gerak.

**Injek.** 10  $\mu\text{l}$ .

**Waktu tambat relatif.** Tetramisol sekitar 3 menit, ketidakmurnian A sekitar 0,9, ketidakmurnian B sekitar 1,4, ketidakmurnian C sekitar 1,5, ketidakmurnian D sekitar 1,6, ketidakmurnian E sekitar 2,0.

**Kesesuaian sistem larutan standar (a).** Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama yang diperoleh dengan standar kesesuaian sistem tetramisol hidroklorida.

#### Batas

**Faktor-koreksi.** Mengalikan area puncak ketidakmurnian berikut oleh faktor-koreksi ketidakmurnian A = 2,0, ketidakmurnian B = 1,7, ketidakmurnian C = 2,9, ketidakmurnian D = 1,3, ketidakmurnian E = 2,7.

**Ketidakmurnian A, B, C, D, E.** Untuk setiap ketidakmurnian, tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,2%).

**Ketidakmurnian lain.** Tidak lebih dari setengah area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,1%).

**Total.** Tidak lebih dari 1,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,3%).

**Abaikan batas.** 0,25 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,05%).

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Pada 12 ml memenuhi uji batas A. Gunakan standar timbal (1 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Keringkan pada suhu  $105^\circ\text{C}$ . Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,2 g dalam 30 ml alkohol dan tambah 5,0 ml asam hidroklorida 0,01 M. Lakukan titrasi secara potensiometri, gunakan natrium hidroksida 0,1 M. Catat volume yang ditambahkan antara 2 titik infleksi. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 0,02408 g  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}\cdot\text{HCl}$ .

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Obat cacing.

## Tetramisol Serbuk Oral

#### Definisi

Tetramisol serbuk oral mengandung tetramisol hidroklorida dalam pembawa yang sesuai. Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam serbuk oral dan persyaratan berikut: Mengandung tetramisol hidroklorida tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%, dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

A. Larutkan sediaan setara 0,5 g tetramisol hidroklorida dalam 20 ml air. Tambah 6 ml natrium hidroksida 1 M. Ekstraksi dengan 20 ml diklorometan. Bilas ekstrak diklorometan dengan 10 ml air. Alirkan ekstrak melalui natrium sulfat anhidrat dan saring. Uapkan hasil saringan pada suhu ruang dan keringkan pada suhu tidak lebih dari  $40^\circ\text{C}$ . Spektrum serapan inframerah sesuai dengan dengan spektrum standar tetramisol.

B. Suhu lebur dari residu  $91^\circ\text{C}$ .

C. Larutan 5% b/v menunjukkan reaksi klorida.

**Serapan cahaya.** Serapan maksimum pada panjang gelombang 310 nm untuk larutan 0,1% b/v dalam asam klorida 0,2 M dalam metanol sekitar 0,20.

**2,3-Dihidro-6-fenilimidazo[2,1-b]tiazol hidroklorida.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 45 bagian toluen, 8 bagian metanol dan 4 bagian asam asetat glasial.

**Larutan (1).** Sediaan uji 5% b/v dalam metanol.

**Larutan (2).** Standar 2,3-dihidro-6-fenilimidazo[2,1-b]tiazol hidroklorida 0,025% b/v dalam metanol.

Totolkan secara terpisah 10 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan larutan kalium iodoplatina. Bercak yang diperoleh dari larutan (2) lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan bercak yang diperoleh dari larutan (1).

#### Penetapan kadar

Lakukan titrasi bebas air. Gunakan sediaan setara 0,5 g dan larutan 1-naftolbenzen sebagai indikator. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 24,08 mg  $C_{11}H_{12}N_2S.HCl$ .

#### Penyimpanan

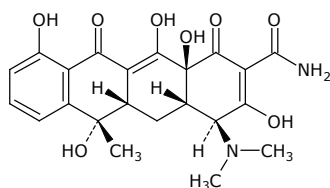
Dalam wadah, tertutup kedap dan terlindung dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

### Tetrasiklin

*Tetracycline*



$C_{22}H_{24}N_2O_8$

BM: 444,4

[60-54-8]

#### Definisi

Tetrasiklin adalah (4S,4aS,5aS,6S,12aS)-4-(dimetilamino)-3,6,10,12,12a-pentahidroksi-6-metil-1,11-dioksa-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidrotetrasen-2-karboksamid. Mengandung tidak kurang dari 88,0% dan tidak lebih dari 102,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal kuning.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, larut dalam etanol (96%) dan metanol, agak sukar larut dalam aseton. Larut dalam larutan asam dan alkali encer.

#### Identifikasi

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 5 mg zat uji dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 5 mg standar tetrasiklin hidroklorida dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 5 mg standar tetrasiklin hidroklorida, 5 mg demeklosiklin

hidroklorida dan 5 mg oksitetrasiklin hidroklorida dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Lempeng.** Silika gel oktadesilsilil  $F_{254}$  atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 20 volume asetonitril, 20 volume metanol dan 60 volume asam oksalat (63 g/l, atur pH 2 dengan amoniak pekat).

Totolkan secara terpisah 1 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa pada cahaya ultraviolet (254 nm).

**Kesesuaian sistem.** Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan 3 bercak yang terpisah.

**Hasil.** Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji adalah sama pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

B. Pada 2 mg, tambah 5 ml asam sulfat, terbentuk warna merah-violet. Tambah 2,5 ml air, terbentuk warna kuning.

C. Larutkan 10 mg dalam campuran 1 ml asam nitrat encer dan 5 ml air. Kocok dan tambah 1 ml larutan perak nitrat. Opalesensi lain dalam larutan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan campuran 1 ml asam nitrat encer, 5 ml air dan 1 ml larutan perak nitrat.

**pH.** 3,5—6,0. Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 10 ml.

**Rotasi jenis.**  $-260^\circ$  sampai  $-280^\circ$  (zat kering). Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 50,0 ml.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25,0 mg zat uji dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 25,0 mg standar tetrasiklin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 12,5 mg standar 4-epitetrasiklin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 10,0 mg standar anhidrotetrasiklin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan 10,0 mg standar 4-epi-anhidrotetrasiklin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (e).** Campur 1,0 ml larutan standar (a), 2,0 ml larutan standar (b), 5,0 ml larutan standar (d), dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar (f).** Campur 40,0 ml larutan standar (b), 20,0 ml larutan standar (c) dan 5,0 ml larutan standar (d) dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 200,0 ml.

**Larutan standar (g).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (c) dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 50,0 ml.

**Kolom.** Kopolimer stiren-divinilbenzen (8  $\mu\text{m}$ ), ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 60°C.

**Fase gerak.** Larutkan dan encerkan 80,0 g 2-metil-2-propanol dengan 200 ml air, tambah 100 ml dikalium hidrogen fosfat (35 g/l, atur pH 9,0 dengan asam fosfat encer), 200 ml tetrabutilamonium hidrogen sulfat (10 g/l, atur pH 9,0 dengan natrium hidroksida encer), 10 ml natrium edetat (40 g/l, atur pH 9,0 dengan natrium hidroksida encer), dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek.** 20  $\mu\text{l}$  larutan uji dan larutan standar (e), (f) dan (g).

**Kesesuaian sistem.** Resolusi tidak kurang dari 2,5 antara puncak ketidakhurnian A (puncak ke-1) dan tetrasiklin (puncak ke-2), tidak kurang dari 8,0 antara puncak tetrasiklin dan ketidakhurnian D (puncak ke-3) pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e). Jika diperlukan, atur konsentrasi 2-metil-2-propanol dalam fase gerak.

**Perbandingan puncak gangguan.** Tidak kurang dari 3 untuk puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (g).

**Faktor simetri.** Tidak lebih dari 1,25 untuk puncak tetrasiklin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e).

#### Batas

**Ketidakhurnian A.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (f) (5,0%).

**Ketidakhurnian B.** Tidak lebih dari 0,4 kali area puncak ketidakhurnian A pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (f) (2,0%).

**Ketidakhurnian C.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (f) (1,0%).

**Ketidakhurnian D.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (f) (0,5%).

**Logam berat.** Tidak lebih dari 50 ppm. Pada 0,5 g memenuhi uji batas logam berat. Gunakan 2,5 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 13,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih 0,5%. Gunakan 1,0 g.

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

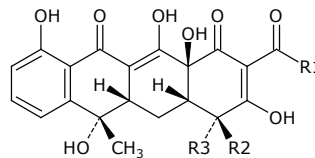
1. Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

2. Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis menggunakan larutan uji dan larutan standar (a).

#### Penyimpanan

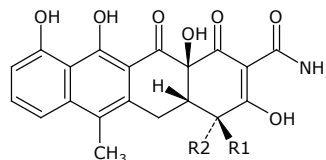
Dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakhurnian



A. R1 = NH<sub>2</sub>, R2 = H, R3 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>: (4R,4aS,5aS,6S,12aS)-4-(dimetilamino)-3,6,10,12,12a-pentahidroksi-6-metil-1,11-diokso-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidrotetrasena-2-karboksamida(4-epitetrasiklin).

B. R1 = CH<sub>3</sub>, R2 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R3 = H: (4S,4aS,5aS,6S,12aS)-2-asetil-4-(dimetilamino)-3,6,10,12,12a-pentahidroksi-6-metil-4a,5a,6,12a-tetrahidrotetrasena-1,11(4H,5H)-dion(2-asetil-2-decarbamoil-tetrasiklin).



C. R1 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R2 = H: (4S,4aS,12aS)-4-(dimetilamino)-3,10,11,12a-tetrahidroksi-6-metil-1,12-diokso-1,4,4a,5,12,12a-heksahidrotetrasena-2-karboksamida (anhidrotetrasiklin).

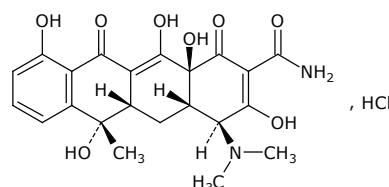
D. R1 = H, R2 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>: (4R,4aS,12aS)-4-(dimetilamino)-3,10,11,12a-tetrahidroksi-6-metil-1,12-diokso-1,4,4a,5,12,12a-heksahidrotetrasena-2-karboksamida (4-epianhidrotetrasiklin).

#### Khasiat

Antibiotik

## Tetrasiklin Hidroklorida

*Tetracycline Hydrochloride*



C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>, HCl

BM: 480,9

[64-75-5]

#### Definisi

Tetrasiklin adalah (4S,4aS,5aS,6S,12aS)-4-(Dimetilamino)-3,6,10,12,12a-pentahidroksi-6-metil-1,11-diokso-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidrotetrasena-2-karboksamid hidroklorida.

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 102,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal kuning.

**Kelarutan.** Larut dalam air, sukar larut dalam etanol (96%), praktis tidak larut dalam aseton. Larut dalam larutan alkali hidroksida dan karbonat.

**Identifikasi**

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 5 mg zat uji dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 5 mg standar tetrasiklin hidroklorida dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 5 mg standar tetrasiklin hidroklorida, 5 mg demeklosiklin hidroklorida dan 5 mg oksitetrasiklin hidroklorida dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Lempeng.** Silika gel oktadesilsilil  $F_{254}$  atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 20 volume asetonitril, 20 volume metanol dan 60 volume asam oksalat (63 g/l, atur pH 2 dengan amoniak pekat).

Totolkan secara terpisah 1  $\mu$ l dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa pada cahaya ultraviolet (254 nm).

**Kesesuaian sistem.** Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) menunjukkan 3 bercak yang terpisah.

**Hasil.** Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji adalah sama pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

B. Pada 2 mg, tambah 5 ml asam sulfat, terbentuk warna merah-violet. Tambah 2,5 ml air, terbentuk warna kuning.

C. Larutan memberikan reaksi klorida.

**pH.** 1,8—2,8. Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 10 ml.

**Rotasi jenis.**  $-240^\circ$  sampai  $-255^\circ$  (zat kering). Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 25,0 ml.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25,0 mg zat uji dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 25,0 mg standar tetrasiklin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 12,5 mg standar 4-epitetrasiklin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 10,0 mg standar anhidrotetrasiklin hidroklorida dalam asam

hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan 10,0 mg standar 4-epi-anhidrotetrasiklin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (e).** Campur 1,0 ml larutan standar (a), 2,0 ml larutan standar (b), 5,0 ml larutan standar (d), dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar (f).** Campur 40,0 ml standar (b), 20,0 ml larutan standar (c) dan 5,0 ml standar (d) dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai volume 200,0 ml.

**Larutan standar (g).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (c) dengan asam hidroklorida 0,01 M sampai batas volume 50,0 ml.

**Kolom.** Kopolimer stiren-divinilbenzen (8  $\mu$ m), ukuran 25 cm x 4,6 mm, suhu  $60^\circ\text{C}$ .

**Fase gerak.** Larutkan dan encerkan 80,0 g 2-metil-2-propanol dengan 200 ml air, tambah 100 ml dikalium hidrogen fosfat (35 g/l, atur pH 9,0 dengan asam fosfat encer), 200 ml tetrabutylamonium hidrogen sulfat (10 g/l, atur pH 9,0 dengan natrium hidroksida encer), 10 ml natrium edetat (40 g/l, atur pH 9,0 dengan natrium hidroksida encer), dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek.** 20  $\mu$ l larutan uji dan larutan standar (e), (f) dan (g).

**Kesesuaian sistem.** Resolusi tidak kurang dari 2,5 antara puncak ketidakhurnian A (puncak ke-1) dan tetrasiklin (puncak ke-2), tidak kurang dari 8,0 antara puncak tetrasiklin dan ketidakhurnian D (puncak ke-3) pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e). Jika diperlukan, atur konsentrasi 2-metil-2-propanol dalam fase gerak.

**Perbandingan puncak gangguan.** Tidak kurang dari 3 untuk puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (g).

**Faktor simetri.** Tidak lebih dari 1,25 untuk puncak tetrasiklin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e).

**Batas**

**Ketidakhurnian A.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (f) (3,0%).

**Ketidakhurnian B.** Tidak lebih dari 0,5 kali area puncak ketidakhurnian A pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (f) (1,5%).

**Ketidakhurnian C.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (f) (0,5%).

**Ketidakhurnian D.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (f) (0,5%).



**Logam berat.** Tidak lebih dari 50 ppm. Pada 0,5 g memenuhi uji batas logam berat. Gunakan 2,5 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 2,0% pada pengeringan dengan suhu 60°C di atas fosfor pentoksida dan tekanan tidak lebih dari 670 Pa sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih 0,5%. Gunakan 1,0 g.

**Endotoksin bakteri.** Tidak lebih dari 0,5 IU/mg.

### Penetapan potensi/kadar

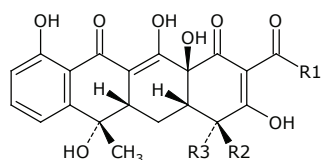
Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis menggunakan larutan uji dan larutan standar (a).

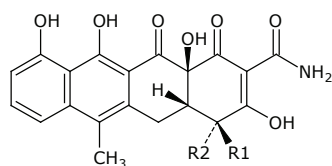
### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Ketidakh murnian



- A. R1 = NH<sub>2</sub>, R2 = H, R3 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>: (4R,4aS,5aS,6S,12aS)-4-(dimetilamino)-3,6,10,12,12a-pentahidroksi-6-metil-1,11-diookso-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-oktahidrotetrasena-2-karboksamida (4-epitetrasiklin).
- B. R1 = CH<sub>3</sub>, R2 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R3 = H: (4S,4aS,5aS,6S,12aS)-2-asetil-4-(dimetilamino)-3,6,10,12,12a-pentahidroksi-6-metil-4a,5a,6,12a-tetrahidrotetrasena-1,11(4H,5H)-dion (2-asetil-2-dekarbamoiltetrasiklin).



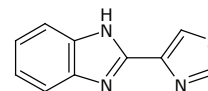
- C. R1 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R2 = H: (4S,4aS,12aS)-4-(dimetilamino)-3,10,11,12a-tetrahidroksi-6-metil-1,12-diookso-1,4,4a,5,12,12a-heksahidrotetrasena-2-karboksamida (anhidrotetrasiklin).
- D. R1 = H, R2 = N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>: (4R,4aS,12aS)-4-(dimetilamino)-3,10,11,12a-tetrahidroksi-6-metil-1,12-diookso-1,4,4a,5,12,12a-heksahidrotetrasena-2-karboksamida (4-epianhidrotetrasiklin).

### Khasiat

Antibiotik

## Tiabendazol

*Tiabendazole*



C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>S

BM: 201,2

[148-79-8]

### Definisi

Tiabendazol mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari 2-(tiazol-4-il)-1H-benzimidazol, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak dapat larut dalam air, sukar larut dalam alkohol dan metilen klorida. Larut dalam asam meniteral encer.

**Suhu lebur.** 300°C.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: B.

Identifikasi kedua: A, C, D.

- A. Larutkan dan encerkan 25 mg dalam asam hidroklorida 0,1M sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 2,0 ml larutan dengan asam hidroklorida 0,1M sampai batas volume 100,0 ml. Periksa pada panjang gelombang 230 nm dan 350 nm, menunjukkan dua serapan maksimum, pada panjang gelombang 243 nm dan 302 nm. Perbandingan serapan maksimum pada panjang gelombang 302 nm dan 243 nm adalah 1,8—2,1.
- B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar tiabendazol.
- C. Pada kromatogram yang diperoleh dalam uji senyawa sejenis dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- D. Larutkan dan encerkan 5 mg dalam asam hidroklorida 0,1M sampai volume 5 ml. Tambah 3 mg p-fenilendiamin dihidroklorida dan kocok sampai larut. Tambah 0,1 g serbuk seng, aduk, diamkan selama 2 menit dan tambah 5 ml besi (III) amonium sulfat. Terbentuk warna violet kebiruan.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel HF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,10 g zat uji dalam metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 2 ml larutan uji (a) dengan metanol sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar tiabendazol dalam metanol sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (b) dengan metanol sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 1 ml larutan uji (b) dengan metanol sampai batas volume 25 ml.

**Fase gerak.** Campur 2,5 volume air, 10 volume aseton, 25 volume asam asetat glasial dan 62,5 volume toluene.

Totolkan 20 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), selain bercak utama, tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,0%) dan paling banyak bercak adalah lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,4%).

**o-Fenilendiamin.** Pada 5,0 g, tambah 25 ml campuran 1 volume metanol dan 2 volume air. Kocok selama 3 menit dan saring secara vakum. Pada 10 ml hasil saringan, tambah 0,5 ml asam hidroklorida, 0,5 ml asetilaseton dan kocok sampai larutan jernih. Larutan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar R<sub>7</sub> (10 ppm).

**Logam berat.** Pada 1,0 g memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Air.** Tidak lebih dari 0,5%. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,2%. Gunakan 1g.

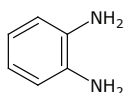
#### Penetapan kadar

Larutkan 0,15 g pada 30 ml asam asetat glasial. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M, tentukan titik-akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 20,12 mg C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>S.

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakhurnian



Benzen-1,2-diamin.

#### Khasiat

Obat cacing.

## Tiabendazol Serbuk Oral

#### Definisi

Tiabendazol serbuk oral mengandung tiabendazol dalam pembawa yang sesuai.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut.

Mengandung tiabendazol tidak kurang 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%, dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 62,5 volume toluen, 25 volume asam asetat glasial, 10 volume aseton dan 2,5 volume air.

**Larutan (1).** Kocok sediaan setara 0,5 g tiabendazol dengan 50 ml asam hidroklorida metanolik, atur pH 12 dengan natrium hidroksida metanolik 1 M, saring dengan kertas whatman atau yang sesuai.

**Larutan (2).** Encerkan 1 ml larutan (1) dalam metanol sampai batas volume 100 ml.

**Larutan (3).** Encerkan 1 ml larutan (1) dalam metanol sampai batas volume 250 ml.

Totolkan 20 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dibawah cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm. Bercak kedua pada kromatogram yang diperoleh larutan (1) tidak lebih kuat intensitas warnanya dari bercak pada kromatogram yang diperoleh larutan (2)(1%), dan tidak lebih dari 1 bercak yang lebih kuat intensitas warnanya dari bercak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan (3)(0,4%), abaikan bercak lain yang muncul pada garis awal.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Sediaan setara dengan 100 mg tiabendazol, tambah 75 ml asam hidroklorida 0,1 M, panaskan di atas penangas air selama 15 menit, aduk kembali, dinginkan dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 100 ml dan saring. Encerkan 5 ml larutan dengan asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 1000 ml. Ukur pada panjang gelombang 302 nm.

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Tiabendazol Suspensi Oral

#### Definisi

Tiabendazol suspensi oral adalah suspensi dalam pembawa, stabiliser dan emulgator yang sesuai.

Suspensi oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan larutan oral dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% tiabendazol dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 62,5 volume toluen, 25 volume asam asetat glasial, 10 volume aseton dan 2,5 volume air.

**Larutan (1).** Kocok sediaan setara 0,5 g tiabendazol dengan 50 ml asam hidroklorida metanolik, atur pH 12 dengan natrium hidroksida metanolik 1 M, saring dengan kertas whatman atau yang sesuai.

**Larutan (2).** Encerkan 1 ml larutan (1) dalam metanol sampai batas volume 100 ml.

**Larutan (3).** Encerkan 1 ml larutan (1) dalam metanol sampai batas volume 250 ml.

Totolkan secara terpisah 20 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dibawah cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm. Bercak kedua pada kromatogram yang diperoleh larutan (1) tidak lebih kuat intensitas warnanya dari bercak pada kromatogram yang diperoleh larutan (2)(1%), dan tidak lebih dari 1 bercak yang lebih kuat intensitas warnanya dari bercak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan (3)(0,4%), abaikan bercak lain yang muncul pada garis awal.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Sediaan setara dengan 100 mg tiabendazol, tambah 75 ml asam hidroklorida 0,1 M, panaskan di atas penangas air selama 15 menit, aduk kembali, dinginkan dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 100 ml dan saring. Encerkan 5 ml larutan dengan asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 1000 ml.

Ukur pada panjang gelombang 302 nm.

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Tiabendazol Tablet

#### Definisi

Tiabendazol tablet mengandung tiabendazol dalam pembawa yang sesuai.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut.

Mengandung tiabendazol tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 62,5 volume toluen, 25 volume asam asetat glasial, 10 volume aseton dan 2,5 volume air.

**Larutan (1).** Kocok sediaan setara 0,5 g tiabendazol dengan 50 ml asam hidroklorida metanolik, atur pH 12 dengan natrium hidroksida metanolik 1 M, saring dengan kertas whatman atau yang sesuai.

**Larutan (2).** Encerkan 1 ml larutan (1) dalam metanol sampai batas volume 100 ml.

**Larutan (3).** Encerkan 1 ml larutan (1) dalam metanol sampai batas volume 250 ml.

Totolkan 20 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara.

Periksa dibawah cahaya ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm. Bercak kedua pada kromatogram yang diperoleh larutan (1) tidak lebih kuat intensitas warnanya dari bercak pada kromatogram yang diperoleh larutan (2)(1%), dan tidak lebih dari 1 bercak yang lebih kuat intensitas warnanya dari bercak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan (3)(0,4%), abaikan bercak lain yang muncul pada garis awal.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Sediaan setara dengan 100 mg tiabendazol, tambah 75 ml asam hidroklorida 0,1 M, panaskan di atas penangas air selama 15 menit, aduk kembali, dinginkan dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 100 ml dan saring. Encerkan 5 ml larutan dengan asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 1000 ml. Ukur pada panjang gelombang 302 nm.

#### Penyimpanan

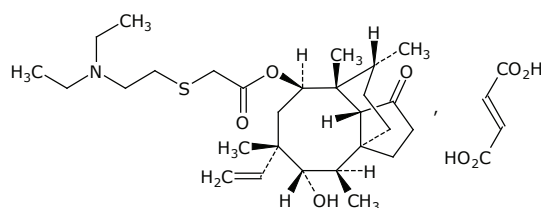
Dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Tiamulin Hidrogen Fumarat

*Tiamulin Hydrogen Fumarate*



C<sub>32</sub>H<sub>51</sub>NO<sub>8</sub>S

BM: 610

[55297-96-6]

#### Definisi

Tiamulin hidrogen fumarat adalah (3aS,4R,5S,6S,8R,9R,9aR,10R)-6-etenil-5-hidroksi-4,6,9,10-tetrametil-1-oksodekahidro-3a,9-propano-3aH-siklopen-tasiklookten-8-il[[2-(dietilamino)etil]sulfanil]hidrogen asetat (E)-but-2-enedioat.

Mengandung tidak kurang dari 96,5% dan tidak lebih dari 102,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kuning terang.

**Kelarutan.** Larut dalam air dan metanol, mudah larut dalam etanol anhidrat.

#### Identifikasi

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar tiamulin hidrogen fumarat.

**pH.** 3,1—4,1. Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 50 ml.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Dapar amonium karbonat pH 10,0.** Larutkan 10,0 g amonium karbonat dalam air, tambah 22 ml asam perklorat dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000,0 ml. Atur pH 10,0 dengan amoniak pekat.

**Pelarut.** Campur larutan dapar amonium karbonat pH 10,0 dan asetonitril (50:50 v/v).

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,2 g zat uji dalam pelarut sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 0,2 g standar tiamulin hidrogen fumarat dalam pelarut sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan pelarut sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan 40,0 mg asam fumarat dalam pelarut sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan 4 mg standar tiamulin untuk identifikasi puncak (mengandung ketidakmurnian B, C, D, E, H dan I) dalam pelarut sampai volume 50,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 15 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 30°C.

**Fase gerak.** Campur asetonitril, dapar amonium karbonat pH 10,0 dan metanol (21:30:49 v/v/v).

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 212 nm.

**Injek.** 20  $\mu\text{l}$ .

**Waktu uji.** 3 kali waktu tambat tiamulin.

**Identifikasi ketidakmurnian.** Gunakan kromatogram standar tiamulin untuk identifikasi dan pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (d) untuk identifikasi puncak ketidakmurnian B dan H.

**Waktu tambat relatif.** Standar tiamulin sekitar 18 menit, ketidakmurnian G sekitar 0,2, ketidakmurnian A sekitar 0,22, ketidakmurnian H sekitar 0,23, ketidakmurnian I sekitar 0,3, ketidakmurnian J sekitar 0,4, ketidakmurnian K sekitar 0,45, ketidakmurnian B sekitar 0,5, ketidakmurnian L sekitar 0,65, ketidakmurnian C sekitar 0,66, ketidakmurnian F sekitar 0,8, ketidakmurnian M sekitar 0,85, ketidakmurnian D sekitar 1,1, ketidakmurnian sekitar 1,4, ketidakmurnian T sekitar 1,6, ketidakmurnian E 2,4.

**Kesesuaian sistem larutan standar (a).** Pemisahan antara puncak tiamulin dan ketidakmurnian D.

#### Batas

**Ketidakmurnian B, H.** Untuk setiap ketidakmurnian, tidak lebih dari 1,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,5%).

**Ketidakmurnian A, C, D, E, F, G, I, J, K, L, M, S, T.** Untuk setiap ketidakmurnian, tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,0%).

**Ketidakmurnian lain.** Untuk setiap ketidakmurnian, tidak lebih dari 0,2 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,2%).

**Total.** Tidak lebih dari 3 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (3,0%).

**Abaikan batas.** 0,1 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,1%), abaikan puncak lain pada larutan standar (c).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

#### Penetapan potensi/kadar

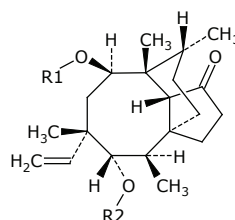
Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis menggunakan larutan uji dan larutan standar (a).

#### Penyimpanan

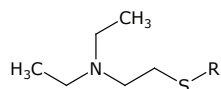
Dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakmurnian



- A. R1 = R2 = H: (3aS,4R,5S,6S,8R,9R,9aR,10R)-6-etenil-5,8-dihidroksi-4,6,9,10-tetrametiloktahidro-3a,9-propano-3aH-siklopentasilokloktan-1(4H)-on (mutilin).
- G. R1 = CO-CH<sub>2</sub>OH, R2 = H: (3aS,4R,5S, 6S,8R,9R, 9aR,10R)-6-etenil-5-hidroksi-4,6,9,10-tetrametil-1-oksodekahidro-3a,9-propano-3aH-siklopentasilokloktan-8-il hidroksiasetat (pleuromutilin).
- J. R1 = CO-CH<sub>3</sub>, R2 = H: (3aS,4R,5S,6S,8R,9R,9aR, 10R)-6-etenil-5-hidroksi-4,6,9,10-tetrametil-1-oksodekahidro-3a,9-propano-3aH-siklopentasilokloktan-8-il asetat (mutilin 14-asetat).
- K. R1 = H, R2 = CO-CH<sub>3</sub>: (3aS,4R,5S,6S,8R,9R,9aR, 10R)-6-etenil-8-hidroksi-4,6,9,10-tetrametil-1-oksodekahidro-3a,9-propano-3aH-siklopentasilokloktan-5-il asetat (mutilin 11-asetat).
- L. R1 = CO-CH<sub>2</sub>-O-SO<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-pCH<sub>3</sub>, R2 = H: (3aS,4R, 5S,6S,8R,9R,9aR,10R)-6-etenil-5-hidroksi-4,6, 9,10-tetrametil-1-oksodekahidro-3a,9-propano-3aH-siklopentasilokloktan-8-il[[4-metilfenil]sulfonyl]oksi]asetat (pleuromutilin 22-tosilat).
- M. R1 = R2 = CO-CH<sub>3</sub>: (3aS,4R,5S,6S,8R, 9R,9aR,10R)-6-etenil-4,6,9,10-tetrametil-1-oksodekahidro-3a,9-propano-3aH-siklopentasilokloktan-5,8-diildiasetat (mutilin 11,14-diasetat).
- P. R1 = CO-CH<sub>2</sub>-O-SO<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, R2 = H: (3aS,4R,5S, 6S,8R,9R,9aR,10R)-6-etenil-5-hidroksi-4,6,9,10-tetrametil-1-oksodekahidro-3a,9-propano-3aH-siklopentasilokloktan-8-il[(fenilsulfonyl)oksi]asetat.

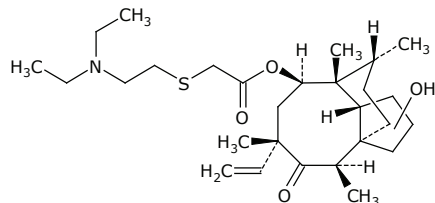
T. R1 = CO-CH<sub>2</sub>-[S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-]2N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>, R2 = H: (3aS,4R,5S,6S,8R,9R,9aR,10R)-6-etenil-5-hidroksi-4,6,9,10-tetrametil-1-okso-dekahidro-3a,9-propano-3aH-siklopentasilokloktan-8-il[[2-[[2-(dietilamino)etil]sulfanil]etil]sulfanil]asetat.



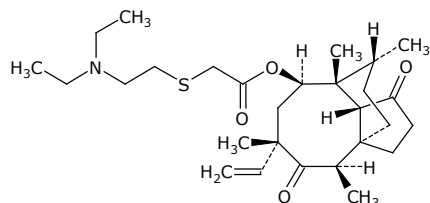
B. R = CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; 2-(benzilsulfanil)-N,N-dietiletanamin.

C. R = S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>; 2,2'-(disulfana-1,2-diil) bis(N,N-dietiletanamin).

O. R = H: 2-(dietilamino)etanetioli.

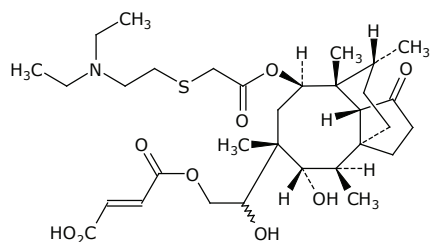


D. (3aR,4R,6S,8R,9R,9aR,10R)-6-etenilhidroksi-4,6,9,10-tetrametil-5-okso-dekahidro-3a,9-propano-3aH-siklopentasilokloktan-8-il[[2-(dietilamino)etil]sulfanil]asetat.

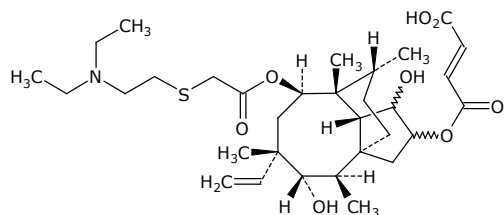


E. (3aS,4R,6S,8R,9R,9aR,10R)-6-etenil-4,6,9,10-tetrametil-1,5-diokso-dekahidro-3a,9-propano-3aH-siklopentasilokloktan-8-il[[2-(dietilamino)etil]sulfanil]asetat (11-oksotiamulin).

F. Ketidakmurnian dari struktur yang tidak diketahui dengan retensi relatif adalah sekitar 0,8.

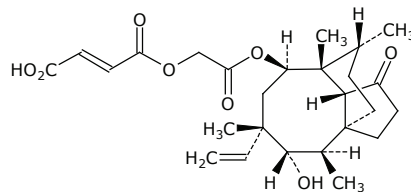


H. Asam (2E)-4-[(2RS)-2-[(3aS,4R,5S,6R,8R,9R,9aR,10R)-8-[[[2-(dietilamino)etil]sulfanil]asetil]oksi]-5-hidroksi-4,6,9,10-tetrametil-1-okso-dekahidro-3a,9-propano-3aH-siklopentasilokloktan-6-il]-2-hidroksietoksi]-4-oksobut-2-enoat-(19,20-dihidroksitiamulin 20-fumarat).

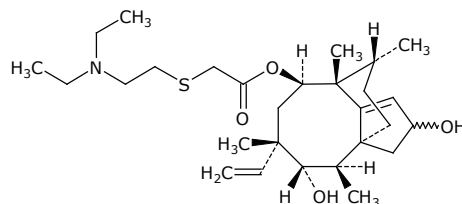


I. Asam (2E)-4-[[[(3aS,4R,5S,6S,8R,9R,9aR,10R)-8-

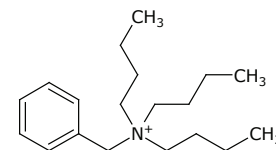
[[[2-(dietilamino)etil]sulfanil]asetil]oksi]-6-etenil-1,5-dihidroksi-4,6,9,10-tetrametil-dekahidro-3a,9-propano-3aH-siklopentasilokloktan-2-il]oksi]-4-oksobut-2-enoat (2,3-dihidroksitiamulin 2-fumarat).



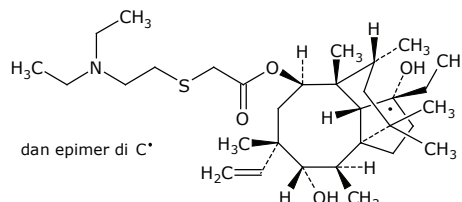
N. Asam (2E)-4-[2-[[[(3aS,4R,5S,6S,8R,9R,9aR,10R)-6-etenil-5-hidroksi-4,6,9,10-tetrametil-1-okso-dekahidro-3a,9-propano-3aH-siklopentasilokloktan-8-il]oksi]-2-oksoetoksi]-4-oksobut-2-enoat (pleuromutilin 22-fumarat).



Q. (3aS,4R,5S,6S,8R,9R,10R)-6-etenil-2,5-dihidroksi-4,6,9,10-tetrametil-2,3,4,5,6,7,8,9-oktahidro-3a,9-propano-3aH-siklopentasilokloktan-8-il[[2-(dietilamino)etil]sulfanil]asetat (3,4-didehidro-2-hidroksitiamulin).



R. N-benzil-N,N-dibutilbutan-1-aminium.



S. (1RS,3aR,4R,5S,6S,8R,9R,9aR,10R)-6-etenil-1-etil-1,5-dihidroksi-4,6,9,10,12,12-heksametildekahidro-3a,9-propano-3aH-siklopentasilokloktan-8-il[[2-(dietilamino)etil]sulfanil]asetat.

**Khasiat**  
Antibiotik

### Tiamulin Serbuk Oral

#### Definisi

Tiamulin serbuk oral mengandung tiamulin hidrogen fumarat dalam pembawa yang sesuai.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

- A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar tiamulin hidrogen fumarat.  
 B. Serapan ultraviolet antara 220—350 nm dari larutan 1% dalam air menunjukkan maksimum hanya pada panjang gelombang 285 nm.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Dapar amonium karbonat pH 10,0.** Larutkan 10,0 g amonium karbonat dalam air, tambah 22 ml asam perklorat dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000,0 ml. Atur pH 10,0 dengan amoniak pekat.

**Pelarut.** Campur larutan dapar amonium karbonat pH 10,0 dan asetonitril (50:50 v/v).

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,2 g zat uji dalam pelarut sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 0,2 g standar tiamulin hidrogen fumarat dalam pelarut sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan pelarut sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan 40,0 mg asam fumarat dalam pelarut sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan 4 mg standar tiamulin untuk identifikasi puncak (mengandung ketidakmurnian B, C, D, F, H dan I) dalam pelarut sampai volume 50,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 15 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 30°C.

**Fase gerak.** Campur asetonitril, dapar amonium karbonat pH 10,0 dan metanol (21:30:49 v/v/v).

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 212 nm.

**Injek.** 20  $\mu\text{l}$ .

**Waktu uji.** 3 kali waktu tambat tiamulin.

**Identifikasi ketidakmurnian.** Gunakan kromatogram standar tiamulin untuk identifikasi dan pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (d) untuk identifikasi puncak ketidakmurnian B dan H.

**Waktu tambat relatif.** Standar tiamulin sekitar 18 menit, ketidakmurnian G sekitar 0,2, ketidakmurnian A sekitar 0,22, ketidakmurnian H sekitar 0,23, ketidakmurnian I sekitar 0,3, ketidakmurnian J sekitar 0,4, ketidakmurnian K sekitar 0,45, ketidakmurnian B sekitar 0,5, ketidakmurnian L sekitar 0,65, ketidakmurnian C sekitar 0,66, ketidakmurnian F sekitar 0,8, ketidakmurnian M sekitar 0,85, ketidakmurnian D sekitar 1,1, ketidakmurnian T sekitar 1,6, ketidakmurnian E 2,4.

**Kesesuaian sistem larutan standar (a).** Pemisahan antara puncak tiamulin dan ketidakmurnian D.

**Batas**

**Ketidakhurnian B, H.** Untuk setiap ketidakmurnian, tidak lebih dari 1,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,5%).

**Ketidakhurnian A, C, D, E, F, G, I, J, K, L, M, S, T.** Untuk setiap ketidakmurnian, tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (1,0%).

**Ketidakhurnian lain.** Untuk setiap ketidakmurnian, tidak lebih dari 0,2 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,2%).

**Total.** Tidak lebih dari 3 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (3,0%).

**Abaikan batas.** 0,1 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,1%), abaikan puncak lain pada larutan standar (c).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 2%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Penetapan potensi/kadar**

Lakukan penetapan potensi/kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.
2. Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam uji senyawa sejenis menggunakan larutan uji dan larutan standar (a).

**Penyimpanan**

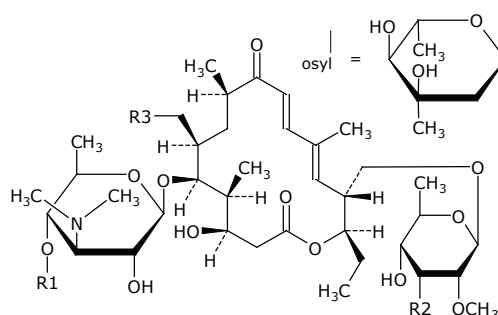
Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

**Tilosin**

*Tylosin*



Tilosin A	$\text{C}_{46}\text{H}_{77}\text{NO}_{17}$
Tilosin B	$\text{C}_{39}\text{H}_{65}\text{NO}_{14}$
Tilosin C	$\text{C}_{45}\text{H}_{75}\text{NO}_{17}$
Tilosin D	$\text{C}_{46}\text{H}_{79}\text{NO}_{17}$

**Definisi**

Tilosin adalah campuran antibiotik makrolida yang diproduksi dari *Streptomyces fradiae* atau yang sesuai. Komponen utama campuran adalah (4R,5S,6S,7R,9R,11E,13E,15R,16R)-15-[[[(6-deoksi-2,3-di-O-metil-beta-D-allopiranosil)oksi]metil]-6-[[3,6-dideoksi-4-O-

(2,6-dideoksi-3-C-metil- $\alpha$ -L-ribo-heksopiranosil)-3-(dimetilameno)- $\beta$ -D-glukopiranosil]oksi]-16-etil-4-hidroksi-5,9,13-trimetil-7-(2-oksoetil) oksasikloheksadeka-11,13-dien-2,10-dion (tilosin A, BM 916). Tilosin B (desmikosin, BM 772), tilosin C (makrosin, BM 902) dan tilosin D (relomisin, BM 918).

Potensi tidak kurang dari 900 IU/mg, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk hampir putih atau sedikit kuning.

**Kelarutan.** Sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol anhidrat dan metilen klorida. Larut dalam larutan asam mineral encer.

### Identifikasi

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar tilosin.
- Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji senyawa sejenis. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- Larutkan 30 mg dalam campuran 0,15 ml air, 2,5 ml asetat anhidrat dan 7,5 ml piridin. Diamkan selama 10 menit. Tidak terbentuk warna hijau.

**pH.** 8,5—10,5. Suspensikan 0,25 g dalam 10 ml air bebas karbon dioksida.

**Komposisi.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

Mengandung tilosin A tidak kurang dari 80,0% dan jumlah tilosin A, tilosin B, tilosin C dan tilosin D tidak kurang dari 95,0%.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 20,0 mg zat uji dalam campuran asetonitril dan air dengan volume yang sama sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 2 mg standar tilosin fosfat untuk identifikasi (mengandung tilosin A, B, C dan D) dalam campuran asetonitril dan air dengan volume yang sama sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan 2 mg standar tilosin dan 2 mg standar tilosin D dalam campuran asetonitril dan air dengan volume yang sama sampai volume 10 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5  $\mu$ m, ukuran 20 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 35°C.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Fase gerak.** Campur 40 volume asetonitril dan 60 volume natrium perklorat (200 g/l, atur pH 2,5 dengan asam hidroklorida 1 M).

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 290 nm.

**Injek.** 20  $\mu$ l larutan standar (b).

**Waktu tambat tilosin A.** Sekitar 12 menit. Uji tidak absah kecuali jika, resolusi antara puncak tilosin A dan tilosin D adalah 2,0.

**Injek.** 20  $\mu$ l larutan uji dan 20  $\mu$ l larutan standar (a). Gunakan kromatogram standar tilosin fosfat untuk identifikasi puncak dan pada kromatogram yang

diperoleh dengan larutan standar (a) untuk identifikasi puncak tilosin A, B, C dan D.

**Tiramin.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 50,0 mg zat uji dalam 5,0 ml asam fosfat (3,4 g/l). Tambahkan 1,0 ml piridin dan 2,0 ml ninhidrin jenuh (40 g/l). Sumbat dengan aluminium foil dan panaskan dalam penangas air pada suhu 85°C selama 30 menit. Dinginkan larutan dan encerkan dengan air sampai batas volume 25,0 ml dan aduk.

**Larutan standar.** Larutkan 5,0 ml standar tiramin (35 mg/l) dalam 5,0 ml asam fosfat (3,4 g/l). Tambahkan 1,0 ml piridin dan 2,0 ml ninhidrin jenuh (40 g/l). Sumbat dengan aluminium foil dan panaskan dalam penangas air pada suhu 85°C selama 30 menit. Dinginkan larutan dan encerkan dengan air sampai batas volume 25,0 ml dan aduk.

Ukur serapan pada panjang gelombang 570 nm, gunakan larutan blanko. Serapan tidak lebih besar dari standar.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 5,0%. Pada pengeringan dengan suhu 60°C dan tekanan tidak lebih dari 0,7 kPa sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 3,0%. Gunakan 1g.

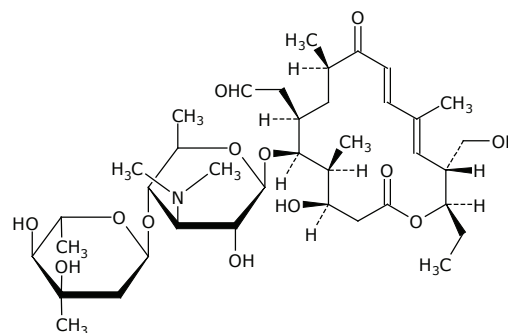
### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

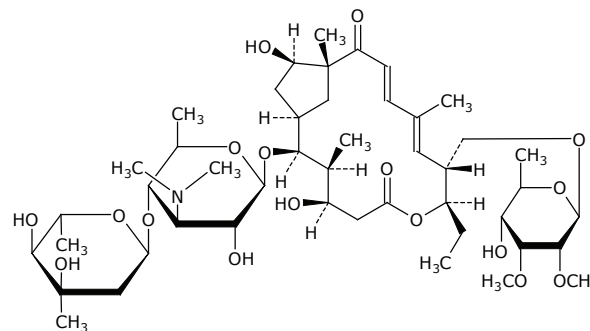
### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

### Ketidakmurnian



A. Desmisisiltilosin.



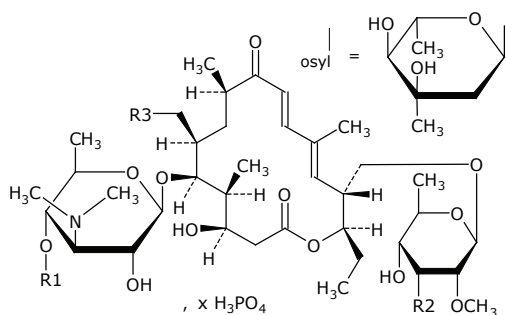
B. Tilosin A aldol.

### Khasiat

Antibiotik.

## Tilosin Fosfat

*Tylosin Phosphate*



Tilosin A	$C_{46}H_{77}NO_{17}$	BM: 916
Tilosin B	$C_{39}H_{65}NO_{14}$	BM: 772
Tilosin C	$C_{45}H_{75}NO_{17}$	BM: 902
Tilosin D	$C_{46}H_{79}NO_{17}$	BM: 918

### Definisi

Larutan dihidrogen fosfat dari campuran antibiotik makrolid yang diproduksi oleh *Streptomyces fradiae* atau dengan cara-cara lain. Komponen utama adalah fosfat (4R,5S,6S,7R,9R,11E,13E,15R,16R)-15-[[[(6-deoksi-2,3-di-O-metil-β-d-allopiranosil)oksi]metil]-6-[[[3,6-dideoksi-4-O-(2,6-dideoksi-3-C-metil-α-l-riboheksopiranosil)-3-(dimetilamino)-β-d-glukopiranosil]oksi]-16-etil-4-hidroksi-5,9,13-trimetoil-7-(2-oksoetil)oksasikloheksadeka-11,13-dien-2,10-dion (tilosin A fosfat). Fosfat dari tilosin B (fosfat desmikosin), tilosin C (fosfat makrosin) dan tilosin D (fosfat relomisin) mungkin ada. Larutan juga mengandung natrium dihidrogen fosfat. Potensi tidak kurang dari 800 IU/mg dari residu kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Cairan kental berwarna kuning kecoklatan.

**Kelarutan.** Bercampur dengan air.

### Identifikasi

- Larutkan dan encerkan zat uji setara dengan 400.000 IU tilosin fosfat dalam air sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml dengan air larutan sampai batas volume 100,0 ml. Serapan pada panjang gelombang 230–350 nm. Serapan maksimum pada panjang gelombang 290 nm sekitar 0,70.
- Pada kromatogram yang diperoleh untuk uji komposisi. Puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama dalam waktu tambat dan ukuran terhadap puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- Larutkan dan encerkan zat uji setara dengan 400.000 IU tilosin fosfat dengan air sampai 10 ml. Larutan memberikan reaksi fosfat.

**pH.** 5,5–6,5. Larutkan dan encekkan 1,0 g dalam air air bebas karbon dioksida sampai 10 ml.

**Komposisi.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan zat uji setara 50.000 IU tilosin fosfat dalam campuran asetonitril dan

air dengan volume yang sama sampai batas volume 200 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 2 mg tilosin fosfat untuk identifikasi puncak (standar mengandung tilosin A, B, C dan D) dalam campuran dengan volume yang sama dari dari asetonitril dan air sampai 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 2 mg tilosin standar dan 2 mg standar tilosin D dalam campuran dengan volume yang sama dari dari asetonitril dan air sampai 10 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dalam campuran dengan volume yang sama dari dari asetonitril dan air sampai sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dalam campuran dengan volume yang sama dari dari asetonitril dan air sampai 10 ml.

**Kolom.** Silika oktadesilsilil, 5 μm, ukuran 20 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 35°C.

**Fase gerak.** Campur 40 volume asetonitril dan 60 volume natrium perklorat (200 g/l), atur pH 2,5 dengan asam hidroklorida (36,5 g/l).

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 290 nm.

**Injek.** 20 μl.

**Waktu uji.** 1,8 kali waktu tambat tilosin A.

**Identifikasi tilosin.** Gunakan kromatogram untuk identifikasi puncak standar tilosin fosfat dan kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) untuk identifikasi puncak tilosin A, B, C dan D.

**Waktu tambat relatif terhadap tilosin A.** (sekitar 12 menit): ketidakhurnian A sekitar 0,35; tilosin C sekitar 0,5; tilosin B sekitar 0,6; tilosin D sekitar 0,85; ketidakhurnian B sekitar 0,9.

**Kesesuaian sistem larutan standar (b).** Resolusi: minimum 2,0 antara puncak tilosin D dan tilosin A.

### Batas

**Tilosin A.** Minimum 80,0%.

**Jumlah tilosin A, tilosin B, tilosin C dan tilosin D.** Minimum 95,0%.

**Abaikan batas.** Area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c).

**Tiramin.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Larutkan zat uji setara dengan 50.000 IU tilosin fosfat dalam 5,0 ml larutan asam fosfat (3,4 g/l). Tambah 1,0 ml piridin dan 2,0 ml larutan ninhidrin jenuh (sekitar 40 g/l). Sumbat labu dengan aluminium foil, panaskan pada suhu 85° selama 20–30 menit. Dinginkan larutan dengan cepat dan encerkan sampai 25,0 ml dengan air dan aduk. Ukur serapan pada panjang gelombang 570 nm. Serapan tidak lebih besar dari standar tiramin (35 mg/l) dalam asam fosfat (3,4 g/l).

**Fosfat.** 8,5–10,0% dari PO<sub>4</sub>, dihitung dari residu kering.

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:



**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan zat uji setara 200.000 IU tilosin fosfat dengan air sampai batas volume 50 ml. Tambah 5,0 ml asam sulfat encer dan encerkan dengan air sampai batas volume 100,0 ml. Pada 2,0 ml larutan, tambah 10,0 ml air, 5,0 ml amonium molibdat, 1,0 ml larutan hidrokuinon dan 1,0 ml larutan natrium metabisulfit (200 g/l), aduk. Biarkan selama 20 menit dan encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml dan aduk.

**Larutan standar (a).** Pada 1,0 ml larutan standar yang mengandung kalium dihidrogen fosfat (0,430 g/l setara 300 ppm PO<sub>4</sub>), tambahkan 10,0 ml air, 5,0 ml amonium molibdat, 1,0 ml larutan hidrokuinon dan 1,0 ml larutan natrium metabisulfit (200 g/l), aduk. Biarkan selama 20 menit dan encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml dan aduk.

**Larutan standar (b).** Siapkan seperti larutan standar (a) menggunakan 2,0 ml larutan standar.

**Larutan standar (c).** Siapkan seperti larutan standar (a) menggunakan 5,0 ml larutan standar.

**Larutan kompensasi.** Siapkan seperti larutan standar (a) tanpa larutan standar.

Ukur serapan larutan uji dan larutan standar pada panjang gelombang 650 nm.

**Penetapan potensi/kadar**

Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

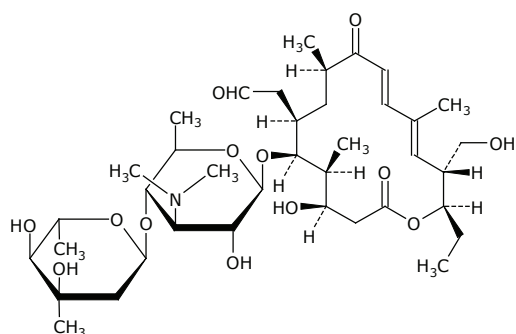
**Penyimpanan**

Dilindungi dari cahaya, pada suhu 2°—8°C.

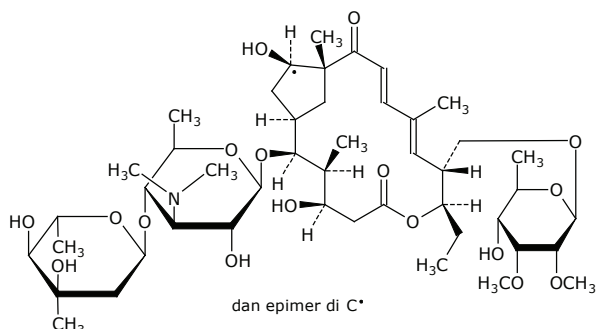
**Penandaan**

Harus dinyatakan potensi dalam International Units setiap miligram.

**Ketidakhayuan**



A. Desmisisintilosin A.



B. (1R,2S,3S,4R,8R,9R,10E,12E,15R,16RS)-9-[[[6-

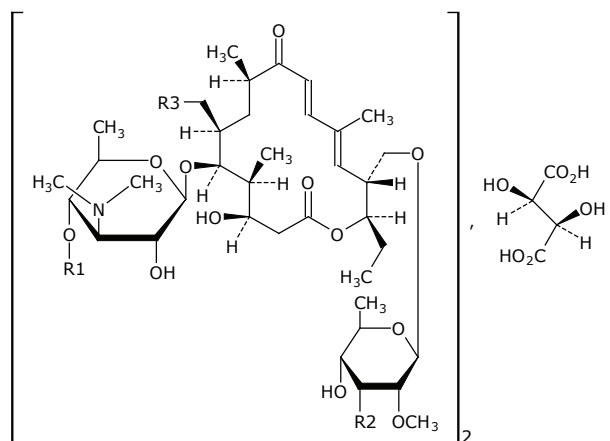
deoksi-2,3-di-O-metil-β-D-allopiranosil)oksi]metil]-2-[[[3,6-dideoksi-4-O-(2,6-dideoksi-3-C-metil-α-L-ribo-heksopiranosil)-3-(dimetilamino)-β-D-glukopiranosil]oksi]-8-etil-4,16-dihidroksi-3,11,15-trimetil-7-oksabisi(klo[13.2.1])oktadeka-10,12-dien-6,14-dion (tilosin A aldol).

**Khasiat**

Antibiotik.

**Tilosin Tartrat**

*Tylosin Tartrate*



Tilosin A	C <sub>46</sub> H <sub>77</sub> NO <sub>17</sub>
Tilosin B	C <sub>39</sub> H <sub>65</sub> NO <sub>14</sub>
Tilosin C	C <sub>45</sub> H <sub>75</sub> NO <sub>17</sub>
Tilosin D	C <sub>46</sub> H <sub>79</sub> NO <sub>17</sub>

**Definisi**

Tilosin tartrat adalah campuran tartrat dari antibiotik makrolida yang diproduksi dari *Streptomyces fradiae* atau yang sesuai. Komponen utama campuran adalah (4R,5S,6S,7R,9R,11E,13E,15R,16R)-15-[[[(6-deoksi-2,3-di-O-metil-β-D-allopiranosil)oksi]metil]-6-[[[3,6-dideoksi-4-O-(2,6-dideoksi-3-C-metil-α-L-ribo-heksopiranosil)-3-(dimetilamino)-β-D-glukopiranosil]oksi]-16-etil-4-hidroksi-5,9,13-trimetil-7-(2-oksoetil) oksasi(klo)heksadeka-11,13-dien-2,10-dion (tilosin A tartrat, BM 1982). Tilosin B (desmikosin tartrat, BM 1694), tilosin C (makrosin tartrat, BM 1954) dan tilosin D (relomisin tartrat, BM 1986).

Potensi tidak kurang dari 800 IU/mg, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk hampir putih atau sedikit kuning, higroskopik.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air dan metilen klorida, sukar larut dalam etanol anhidrat. Larut dalam larutan asam mineral encer.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar tilosin tartrat.

- B. Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji senyawa sejenis. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji adalah sama terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- C. Larutkan 30 mg dalam campuran 0,15 ml air, 2,5 ml asetat anhidrat dan 7,5 ml piridin. Diamkan selama 10 menit. Terbentuk warna hijau.

**pH.** 5,0—7,2. Suspensikan 0,25 g dalam 10 ml air bebas karbon dioksida.

**Komposisi.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

Mengandung tilosin A tidak kurang dari 80,0% dan jumlah tilosin A, tilosin B, tilosin C dan tilosin D tidak kurang dari 95,0%.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 20,0 mg zat uji dalam campuran asetonitril dan air dengan volume yang sama sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 2 mg standar tilosin fosfat untuk identifikasi (mengandung tilosin A, B, C dan D) dalam campuran asetonitril dan air dengan volume yang sama sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan 2 mg standar tilosin dan 2 mg standar tilosin D dalam campuran asetonitril dan air dengan volume yang sama sampai volume 10 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 20 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 35°C.

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Fase gerak.** Campur 40 volume asetonitril dan 60 volume natrium perklorat (200 g/l, atur pH 2,5 dengan asam hidroklorida 1 M).

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 290 nm.

**Injek.** 20  $\mu\text{l}$  larutan standar (b).

**Waktu tambat tilosin A.** Sekitar 12 menit. Uji tidak absah kecuali jika, resolusi antara puncak tilosin A dan tilosin D adalah 2,0.

**Injek.** 20  $\mu\text{l}$  larutan uji dan 20  $\mu\text{l}$  larutan standar (a). Gunakan kromatogram standar tilosin fosfat untuk identifikasi puncak dan pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) untuk identifikasi puncak tilosin A, B, C dan D.

**Tiramin.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 50,0 mg zat uji dalam 5,0 ml asam fosfat (3,4 g/l). Tambahkan 1,0 ml piridin dan 2,0 ml ninhidrin jenuh (40 g/l). Sumbat dengan aluminium foil dan panaskan dalam penangas air pada suhu 85°C selama 30 menit. Dinginkan larutan dan encerkan dengan air sampai batas volume 25,0 ml dan aduk.

**Larutan standar.** Larutkan 5,0 ml standar tiramin (35 mg/l) dalam 5,0 ml asam fosfat (3,4 g/l). Tambahkan 1,0 ml piridin dan 2,0 ml ninhidrin jenuh (40 g/l). Sumbat dengan aluminium foil dan panaskan dalam penangas air pada suhu 85°C selama 30 menit. Dinginkan larutan

dan encerkan dengan air sampai batas volume 25,0 ml dan aduk.

Ukur serapan pada panjang gelombang 570 nm, gunakan larutan blanko. Serapan tidak lebih besar dari standar.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 4,5% Pada pengeringan dengan suhu 60°C dan tekanan tidak lebih dari 0,7 kPa sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 2,5%. Gunakan 1 g.

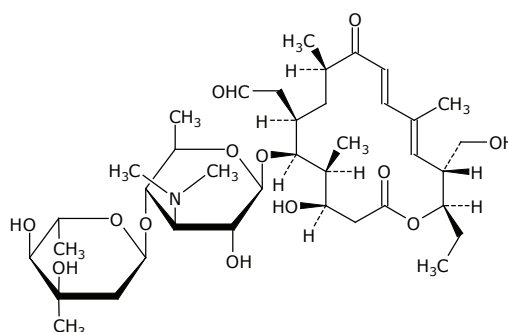
#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

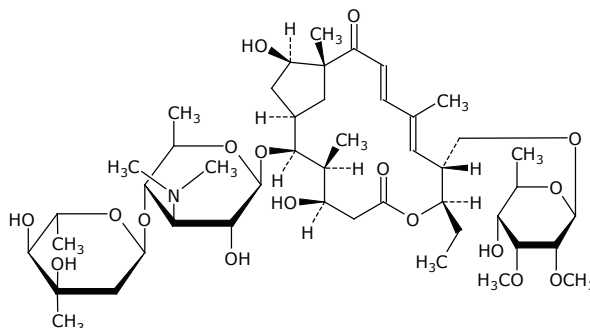
#### Penyimpanan

Kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakhurnian



A. Desmisisosiltilosin.



B. Tilosin A aldol.

#### Khasiat

Antibiotik.

## Tilosin Injeksi

#### Definisi

Tilosin injeksi adalah larutan steril tilosin dalam bahan pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Larutan kuning pucat sampai kuning.

**Identifikasi**

- A. Larutkan dan encerkan zat uji setara dengan 400.000 IU tilosin fosfat dalam air sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml dengan air larutan sampai batas volume 100,0 ml. Serapan pada panjang gelombang 230—350 nm. Serapan maksimum pada panjang gelombang 290 nm sekitar 0,70.
- B. Pada kromatogram yang diperoleh untuk uji komposisi. Puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama dalam waktu tambat dan ukuran terhadap puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a).

**Komposisi.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan zat uji setara 50.000 IU tilosin fosfat dalam campuran asetonitril dan air dengan volume yang sama sampai batas volume 200 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 2 mg tilosin fosfat untuk identifikasi puncak (standar mengandung tilosin A, B, C dan D) dalam campuran dengan volume yang sama dari dari asetonitril dan air sampai 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 2 mg tilosin standar dan 2 mg standar tilosin D dalam campuran dengan volume yang sama dari dari asetonitril dan air sampai 10 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dalam campuran dengan volume yang sama dari dari asetonitril dan air sampai sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dalam campuran dengan volume yang sama dari dari asetonitril dan air sampai 10 ml.

**Kolom.** Silika oktadesilsilil, 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 20 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 35°C.

**Fase gerak.** Campur 40 volume asetonitril dan 60 volume natrium perklorat (200 g/l), atur pH 2,5 dengan asam hidroklorida (36,5 g/l).

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 290 nm.

**Injek.** 20  $\mu\text{l}$ .

**Waktu uji.** 1,8 kali waktu tambat tilosin A.

**Identifikasi tilosin.** Gunakan kromatogram untuk identifikasi puncak standar tilosin fosfat dan kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) untuk identifikasi puncak tilosin A, B, C dan D.

**Waktu tambat relatif terhadap tilosin A.** (Sekitar 12 menit): ketidakh murnian A sekitar 0,35; tilosin C sekitar 0,5; tilosin B sekitar 0,6; tilosin D sekitar 0,85; ketidakh murnian B sekitar 0,9.

**Kesesuaian sistem larutan standar (b).** Resolusi: minimum 2,0 antara puncak tilosin D dan tilosin A.

**Batas**

**Tilosin A.** Minimum.

**Jumlah tilosin A, tilosin B, tilosin C dan tilosin D.** Minimum 95,0%.

**Abaikan batas.** Area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c).

**Tiramin.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Larutkan zat uji setara dengan 50.000 IU tilosin fosfat dalam 5,0 ml larutan asam fosfat (3,4 g/l). Tambah 1,0 ml piridin dan 2,0 ml larutan ninhidrin jenuh (sekitar 40 g/l). Sumbat labu dengan aluminium foil, panaskan pada suhu 85° selama 20—30 menit. Dinginkan larutan dengan cepat dan encerkan sampai 25,0 ml dengan air dan aduk. Ukur serapan pada panjang gelombang 570 nm. Serapan tidak lebih besar dari standar tiramin (35 mg/l) dalam asam fosfat (3,4 g/l).

**Penetapan potensi/kadar**

Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Tilosin Serbuk Oral

**Definisi**

Tilosin serbuk mengandung tilosin dalam pembawa yang sesuai.

Serbuk memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut.

Mengandung tilosin tartrat atau fosfat tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

- A. Larutkan dan encerkan zat uji setara dengan 400.000 IU tilosin fosfat dalam air sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml dengan air larutan sampai batas volume 100,0 ml. Serapan pada panjang gelombang 230—350 nm. Serapan maksimum pada panjang gelombang 290 nm sekitar 0,70.
- B. Pada kromatogram yang diperoleh untuk uji komposisi. Puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama dalam waktu tambat dan ukuran terhadap puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a).

**Komposisi.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan zat uji setara 50.000 IU tilosin fosfat dalam campuran asetonitril dan air dengan volume yang sama sampai batas volume 200 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 2 mg tilosin fosfat untuk identifikasi puncak (standar mengandung tilosin A, B, C dan D) dalam campuran dengan volume yang sama dari dari asetonitril dan air sampai 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 2 mg tilosin standar dan 2 mg standar tilosin D dalam campuran dengan volume yang sama dari dari asetonitril dan air sampai 10 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dalam campuran dengan volume yang sama dari dari asetonitril dan air sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dalam campuran dengan volume yang sama dari dari asetonitril dan air sampai 10 ml.

**Kolom.** Silika oktadesilsilil, 5 µm, ukuran 20 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 35°C.

**Fase gerak.** Campur 40 volume asetonitril dan 60 volume natrium perklorat (200 g/l), atur pH 2,5 dengan asam hidroklorida (36,5 g/l).

**Laju alir.** 1,0 ml/min.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 290 nm.

**Injek.** 20 µl.

**Waktu uji.** 1,8 kali waktu tambat tilosin A.

**Identifikasi tilosin.** Gunakan kromatogram untuk identifikasi puncak standar tilosin fosfat dan kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) untuk identifikasi puncak tilosin A, B, C dan D.

**Waktu tambat relatif terhadap tilosin A.** (Sekitar 12 menit): ketidakmurnian A sekitar 0,35; tilosin C sekitar 0,5; tilosin B sekitar 0,6; tilosin D sekitar 0,85; ketidakmurnian B sekitar 0,9.

**Kesesuaian sistem larutan standar (b).** Resolusi minimum 2,0 antara puncak tilosin D dan tilosin A.

#### Batas

**Tilosin A.** Minimum 80,0%.

**Jumlah tilosin A, tilosin B, tilosin C dan tilosin D.** Minimum 95,0%.

**Abaikan batas.** Area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c).

**Tiramin.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Larutkan zat uji setara dengan 50.000 IU tilosin fosfat dalam 5,0 ml larutan asam fosfat (3,4 g/l). Tambah 1,0 ml piridin dan 2,0 ml larutan ninhidrin jenuh (sekitar 40 g/l). Sumbat labu dengan aluminium foil, panaskan pada suhu 85° selama 20-30 menit. Dinginkan larutan dengan cepat dan encerkan sampai 25,0 ml dengan air dan aduk. Ukur serapan pada panjang gelombang 570 nm. Serapan tidak lebih besar dari standar tiramin (35 mg/l) dalam asam fosfat (3,4 g/l).

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Tilosin Tablet

#### Definisi

Tilosin tablet mengandung tilosin tartrat/fosfat dalam pembawa yang sesuai.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut.

Mengandung tilosin tartrat atau fosfat tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

A. Larutkan dan encerkan zat uji setara dengan 400.000 IU tilosin fosfat dalam air sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml dengan air larutan sampai batas volume 100,0 ml. Serapan pada panjang gelombang 230—350 nm. Serapan maksimum pada panjang gelombang 290 nm sekitar 0,70.

B. Pada kromatogram yang diperoleh untuk uji komposisi. Puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama dalam waktu tambat dan ukuran terhadap puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a).

**Komposisi.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan zat uji setara 50.000 IU tilosin fosfat dalam campuran asetonitril dan air dengan volume yang sama sampai batas volume 200 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 2 mg tilosin fosfat untuk identifikasi puncak (standar mengandung tilosin A, B, C dan D) dalam campuran dengan volume yang sama dari dari asetonitril dan air sampai 10 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 2 mg tilosin standar dan 2 mg standar tilosin D dalam campuran dengan volume yang sama dari dari asetonitril dan air sampai 10 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (a) dalam campuran dengan volume yang sama dari dari asetonitril dan air sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dalam campuran dengan volume yang sama dari dari asetonitril dan air sampai 10 ml.

**Kolom.** Silika oktadesilsilil, 5 µm, ukuran 20 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 35°C.

**Fase gerak.** Campur 40 volume asetonitril dan 60 volume natrium perklorat (200 g/l), atur pH 2,5 dengan asam hidroklorida (36,5 g/l).

**Laju alir.** 1,0 ml/min.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 290 nm.

**Injek.** 20 µl.

**Waktu uji.** 1,8 kali waktu tambat tilosin A.

**Identifikasi tilosin.** Gunakan kromatogram untuk identifikasi puncak standar tilosin fosfat dan kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) untuk identifikasi puncak tilosin A, B, C dan D.

**Waktu tambat relatif terhadap tilosin A.** (Sekitar 12 menit): ketidakh murnian A sekitar 0,35; tilosin C sekitar 0,5; tilosin B sekitar 0,6; tilosin D sekitar 0,85; ketidakh murnian B sekitar 0,9.

#### Kesesuaian sistem

**Larutan standar (b).** Resolusi: minimum 2,0 antara puncak tilosin D dan tilosin A.

#### Batas

**Tilosin A.** Minimum 80,0%.

**Jumlah tilosin A, tilosin B, tilosin C dan tilosin D.** Minimum 95,0%.

**Abaikan batas.** Area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c).

**Tiramin.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Larutkan zat uji setara dengan 50.000 IU tilosin fosfat dalam 5,0 ml larutan asam fosfat (3,4 g/l). Tambah 1,0 ml piridin dan 2,0 ml larutan ninhidrin jenuh (sekitar 40 g/l). Sumbat labu dengan aluminium foil, panaskan pada suhu 85°C selama 20—30 menit. Dinginkan larutan dengan cepat dan encerkan sampai 25,0 ml dengan air dan aduk. Ukur serapan pada panjang gelombang 570 nm. Serapan tidak lebih besar dari standar tiramin (35 mg/) dalam asam fosfat (3,4 g/l).

#### Penetapan potensi/kadar

Lakukan penetapan potensi/kadar seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Tilosin Tartrat dan Sulfatiazol Natrium Serbuk Oral

#### Definsi

Tilosin tartrat dan sulfatiazol natrium serbuk oral adalah campuran tilosin tartrat serta sulfatiazol natrium. Perbandingan campuran tilosin dan sulfatiazol natrium (1 : 3).

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk serbuk oral dan persyaratan berikut.

Masing-masing komponen mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang dinyatakan pada etiket.

#### Identifikasi

A. Sediaan setara dengan 0,25 g tilosin, ekstraksi dua kali masing-masing dengan 25 ml kloroform dan saring. (Simpan residu tidak larut kloroform untuk uji B). Bilas hasil saringan dengan 20 ml natrium hidroksida 0,1 M. Saring fase kloroform melalui natrium sulfat anhidrat. Uapkan hasil saringan sampai mendekati kering dan keringkan residu di atas fosfor pentoksida dengan tekanan tidak melebihi 0,7 kPa selama 1 jam. Spektrum serapan dari residu sesuai dengan spektrum serapan standar tilosin.

B. Keringkan residu yang tidak larut kloroform pada suhu 105°C selama 1 jam. Spektrum serapan inframerah dari residu sesuai dengan spektrum standar natrium sulfatiazol.

**Komposisi.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (1).** Standar tilosin 0,02% b/v dalam campuran air dan asetonitril dengan volume yang sama.

**Larutan (2).** Sediaan tilosin 0,02% dalam pelarut yang sama.

**Kolom.** Nucleosil C18 5 µm, ukuran 20 cm × 5 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Fase gerak.** Campur natrium perklorat 0,85 M dalam larutan asetonitril 40% v/v, atur pH 2,5 menggunakan asam hidroklorida 1 M.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 290 nm.

Kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) menunjukkan resolusi yang sama dengan standar tilosin. Jika diperlukan lakukan penyesuaian molaritas natrium perklorat atau naikkan suhu kolom sampai 50°C. Urutan enam komponen utama standar tilosin pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) adalah desmisisinil tilosin, tilosin C, tilosin B, tilosin D, ketidakh murnian aldol dan tilosin A. Efisiensi kolom, ditentukan menggunakan puncak tilosin A dalam larutan (1), sedikitnya 22.000 plat teoritis/meter. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (2) isi dari tilosin A tidak kurang dari 80,0% dan total isi tilosin A, B, C dan D tidak kurang dari 95,0%. Puncak sulfatiazol akan terelusi segera setelah puncak pelarut dan harus diabaikan.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel H atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 18 volume amonia 10 M dan 90 volume butan-1-ol.

**Larutan (1).** Sediaan setara 0,1 g dari sulfatiazol natrium, tambah 10 ml campuran dari 1 volume

amonias 13,5 M dan 9 volume etanol (96%), aduk dan saring. Gunakan hasil saringan.

**Larutan (2).** Sulfanilamid 0,0050% b/v dalam campuran 9 volume etanol (96%) dan 1 volume amonia 13,5 M.

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng, panaskan pada suhu 105°C selama 10 menit dan semprot dengan larutan 4-dimetilaminobenzaldehid 0,1% b/v dalam etanol (96%) yang mengandung asam hidroklorida 1% v/v. Bercak kedua pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan (1) tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan (2) (0,5%).

#### Penetapan potensi/kadar

**Tilosin.** Lakukan dengan cara yang tertera pada Penetapan Hayati Antibiotik.

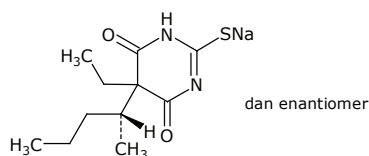
**Sulfatiazol.** Larutkan sediaan setara 0,4 g natrium sulfatiazol seskuihidrat dalam campuran 75 ml air dan 10 ml asam hidroklorida, tambah 3 g kalium bromida, dinginkan dalam es. Titrasi dengan natrium nitrit 0,1 M, tentukan titik-akhir secara elektrometrik. Setiap ml natrium nitrit 0,1 M setara dengan 30,43 mg  $C_9H_8N_3NaO_2S_2 \cdot 1\frac{1}{2}H_2O$ .

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Tiopental Natrium

### *Thiopental Sodium*



#### Definisi

Tiopental natrium dan natrium karbonat adalah campuran dari turunan natrium dari 5-etil-5-[(1RS)-1-metilbutil]-2-tiokso-2,3-dihidropirimidin-4,6(1H,5H)-dion ( $C_{11}H_{17}N_2NaO_2S$ ; BM 264,3) dan natrium karbonat anhidrat.

Mengandung tidak kurang dari 84,0% tidak lebih dari 87,0% tiopental dan tidak kurang dari 10,2% tidak lebih dari 11,2% natrium, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih kekuningan, higroskopis.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, larut sebagian dalam etanol.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B, E.

Identifikasi kedua: A, C, D, E.

A. Asamkan 10 ml larutan S dengan asam hidroklorida encer. Aduk dengan 20 ml eter. Pisahkan lapisan eter, bilas dengan 10 ml air, keringkan dengan natrium sulfat anhidrat dan saring. Uapkan hasil saringan sampai kering dan keringkan residu pada suhu 100°—105°C. Tetapkan suhu lebur dari residu. Campur residu dengan standar tiopental dengan volume yang sama dan tetapkan suhu lebur dari campuran. Perbedaan antara suhu lebur (160°C) tidak lebih dari 2°C.

B. Spektrum serapan inframerah dari residu sesuai dengan spektrum serapan standar tiopental.

C. Lakukan dengan kromatografi lapis tipis menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar.** Larutkan 85 mg standar tiopental dalam 10 ml natrium hidroksida encer dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Fase gerak.** Fase bagian bawah dari campuran 5 volume amonia pekat, 15 volume alkohol dan 80 volume kloroform.

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan diudara. Periksa dengan sinar ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar

D. Memberikan reaksi non-nitrogen sebagai pengganti barbiturat.

E. Memberikan reaksi natrium.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 5,0 g dalam air bebas karbondioksida sampai batas volume 50.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat warnanya daripada larutan standar GY<sub>3</sub>.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 1,0 g zat uji dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar.** Encerkan 0,5 ml larutan uji dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Fase gerak.** Fase bagian bawah dari campuran 5 volume amonia pekat, 15 volume alkohol dan 80 volume kloroform.

Totolkan 20 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan diudara. Periksa segera dengan sinar ultraviolet (254 nm). Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, merupakan bercak utama, tidak lebih kuat dari pada bercak yang diperoleh dengan larutan standar (0,5%). Abaikan bercak pada titik penotolan.

**Klorida.** Pada 5 ml larutan S, tambah 35 ml air dan 10

ml asam nitrat encer. Ekstraksi 3 kali, masing-masing dengan 25 ml eter dan buang lapisan eter. Panaskan diatas penangas air sampai volume 15 ml. Fase air memenuhi uji batas klorida (330 ppm).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 2,5%.

#### Penetapan kadar

**Natrium.** Larutkan 0,4 g dalam 30 ml air dan tambah 0,1 ml merah metal. Titrasi dengan asam hidroklorida 0,1 M sampai warna merah. Didihkan selama 2 menit. Dinginkan dan lanjutkan titrasi sampai warna merah. Setiap ml asam hidroklorida 0,1 M setara dengan 2,299 mg Na.

**Tiopental.** Larutkan 0,15 g dalam 5 ml air. Tambah 2 ml asam sulfat encer, ekstraksi 4 kali, masing – masing dengan 10 ml kloroform. Campur fase kloroform dan uapkan di atas penangas air sampai kering. Larutkan residu dalam 30 ml dimetilformamid (yang telah dinetralkan) dan tambah 0,1 ml biru timol (2 g/l dalam metanol). Titrasi dengan litium metoksida 0,1 M sampai terbentuk warna biru. Lindungi larutan dari karbondioksida selama titrasi setiap ml litium 0,1 M setara dengan 24,23 mg  $C_{11}H_{18}N_2O_2S$ .

#### Penyimpanan

Wadah tertutup, dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Anestetik umum.

## Tiopental Injeksi

#### Definisi

Tiopental injeksi adalah larutan steril tiopental natrium dalam air untuk injeksi atau dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung tiopental natrium tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%, dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

- Larutkan 0,1 g dalam 5 ml air, tambah 1 ml asam hidroklorida 2M dan ekstraksi 2 kali, masing-masing dengan 25 ml kloroform. Bilas ekstrak dengan air, keringkan dengan natrium sulfat anhidrat, uapkan dan keringkan residu pada suhu 50°C. Spektrum serapan inframerah residu sesuai dengan spektrum serapan standar tiopental natrium.
- Memberikan reaksi non-nitrogen, sebagai pengganti barbiturat.
- Memberikan reaksi natrium.

**Kejernihan larutan.** Larutan 10% b/v dalam air bebas karbondioksida tidak lebih kuat warnanya dibanding dengan larutan standar GY<sub>3</sub>.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silica gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 1,0 g zat uji dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar.** Encerkan 0,5 ml larutan uji dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Fase gerak.** Fase bagian bawah dari campuran 5 volume amonia pekat, 15 volume alkohol dan 80 volume kloroform.

Totolkan 20 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan diudara. Periksa segera dengan sinar ultraviolet (254 nm). Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, merupakan bercak utama, tidak lebih kuat dari pada bercak yang diperoleh dengan larutan standar (0,5%). Abaikan bercak pada titik penotolan.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 2,5%. Pada pengeringan dengan suhu 100°C dan tekanan tidak lebih dari 0,7kPa sampai bobot tetap. Gunakan 0,5 g.

#### Penetapan kadar

**Natrium.** Larutkan 0,4 g dalam 30 ml air dan tambah 0,1 ml merah metil. Titrasi dengan asam hidroklorida 0,1 M sampai warna merah. Didihkan selama 2 menit. Dinginkan dan lanjutkan titrasi sampai warna merah.

Setiap ml asam hidroklorida 0,1 M setara dengan 2,299 mg Na.

**Tiopental.** Larutkan 0,15 g dalam 5 ml air. Tambah 2 ml asam sulfat encer, ekstraksi 4 kali, masing – masing dengan 10 ml kloroform. Campur fase kloroform dan uapkan di atas penangas air sampai kering. Larutkan residu dalam 30 ml dimetilformamid (yang telah dinetralkan) dan tambah 0,1 ml biru timol (2 g/l dalam metanol). Titrasi dengan litium metoksida 0,1 M sampai terbentuk warna biru. Lindungi larutan dari karbondioksida selama titrasi

Setiap ml litium 0,1 M setara dengan 24,23 mg of  $C_{11}H_{18}N_2O_2S$ .

#### Penyimpanan

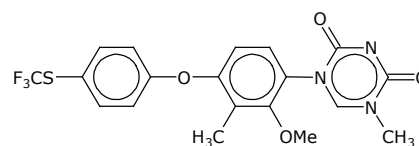
Harus dibuat segar dan digunakan dalam jangka waktu 24 jam setelah larutan.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Toltrazuril

*Toltrazuril*



$C_{18}H_{14}F_3N_3O_4$

BM: 425,4

[69004-03-1]

#### Definisi

Mengandung toltrazuril tidak kurang dari 92,0% dan tidak lebih dari 105,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Larut dalam etil asetat, metilen klorida, metanol, dan air.

**Identifikasi**

Pada kromatogram yang diperoleh pada penetapan kadar, waktu tambat yang diperoleh larutan uji sama dengan waktu tambat yang diperoleh dengan standar toltrazuril.

**Keasaman-kebasaan.** pH 8—10.

**Penetapan kadar**

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25 mg toltrazuril dalam campuran 55 asetonitril dan 45 volume dapar sitrat pH 3 sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 25 mg standar toltrazuril dalam campuran 55 asetonitril dan 45 volume dapar sitrat pH 3 sampai batas volume 50 ml.

**Kolom.** Bondapak C-18, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 55 volume asetonitril dan 45 volume dapar sitrat pH 3.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Penyimpanan**

Dilindung dari cahaya.

**Khasiat**

Antikoksidia

**Trenbolon Asetat**

*Trenbolone Acetate*

$C_{20}H_{24}O_3$

BM: 312,40

[10161-34-9]

**Definisi**

Trenbolon asetat adalah estra-4, 9,11-trien-3-on, 17-(asetiloksi)-17 $\beta$ ; 17 $\beta$ -hidroksiestra-4, 9-11-trien-3-on asetat.

Mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari trenbolon asetat.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal kuning pucat.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan trenbolon asetat.

B. Pada kromatogram yang diperoleh pada penetapan kadar, larutan 1 dalam 10 etanol adalah tidak lebih dari 0,3.

C. Suhu lebur 95°—97°C.

**Rotasi jenis.** Larutan 5 mg/ml metanol adalah +39° dan +43°.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,2%.

**Kemurnian.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan (1).** 10 mg/ml larutan uji.

**Larutan (2).** 0,01 dan 0,05 mg/ml standar trenbolon asetat.

**Fase gerak.** Campur kloroform dan metanol (9:1).

Totolkan secara terpisah 10  $\mu$ l dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan dengan aliran gas nitrogen. Periksa dengan cahaya ultraviolet (366 nm), semprot dengan asam fosfomolibdat, panaskan pada suhu 100°C selama 10 menit. Bercak ketidakmurnian trenbolon asetat tidak lebih dari 0,5% dan total ketidakmurnian termasuk 17- $\alpha$ -isomer tidak lebih dari 1%.

**Trenbolon asetat +17  $\alpha$ -isomer.** Larutan standar 4  $\mu$ g/ml fase gerak, larutan uji 20 mg/20 ml fase gerak, injeskan 20  $\mu$ l, waktu tambat 17  $\alpha$ -isomer relatif 0,8 terhadap trenbolon asetat. Hitung konsentrasi dengan rumus:

$$2 \left( \frac{C}{W} \right) \left( \frac{r_i}{r_s} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi standar internal  $\mu$ g/ml

W = berat sampel dalam larutan uji

$r_i$  = serapan relatif 0,8 trenbolon asetat

$r_s$  = serapan standar.

**Penetapan kadar**

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campur asetonitril dan amonium asetat 1% (55:45).

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm.

**Kolom.** ODS atau yang sesuai.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 0,2 mg/ml standar trenbolon dan 0,2 mg/ml standar trenbolon asetat dalam fase gerak sampai batas volume 100 ml.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 20 mg trenbolon asetat dalam fase gerak sampai batas volume 100 ml.

Waktu tambat trenbolon sekitar 0,4 dan trenbolon asetat 1, resolusi trenbolon terhadap trenbolon asetat tidak boleh lebih dari 25.

Hitung konsentrasi dengan rumus:

$$100 C \left( \frac{r_u}{r_s} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi standar trenbolon asetat.

$A_s$  = serapan larutan uji.

$A_{std}$  = serapan standar trenbolon asetat.



**Penyimpanan**

Simpan pada suhu kurang dari 15°C.

**Khasiat**

Hormon pertumbuhan.

**Trenbolon Implan****Definisi**

Trenbolon implan adalah silinder steril trenbolon asetat yang dibuat dengan cara fusi atau kempa.

Implan memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan injeksi dan persyaratan berikut:

Mengandung trenbolon asetat tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

Periksa kromatogram yang diperoleh pada penetapan kadar, Waktu tambat puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan uji sesuai dengan waktu tambat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar trenbolon.

**Penetapan kadar**

Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada penetapan kadar trenbolon asetat.

**Penyimpanan**

Pada suhu tidak lebih dari 15°C.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Triklorfon

*Trichlorphon*

$C_4H_8Cl_3O_4P$                       BM: 257,5                      [52-68-6]

**Definisi**

Triklorfon adalah dimetilester (2,2,2-trikloro-1-hidroksi-etil)-asam fosfonat.

Mengandung tidak kurang dari 91,2% dan tidak lebih dari 98,4%  $C_4H_8Cl_3O_4P$ , dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kuning pucat.

**Kelarutan.** Larut dalam air dan eter, mudah larut dalam kloroform dan sangat mudah larut dalam etanol.

**Identifikasi**

- A. Larutkan 0,1 g zat standar dengan 10 ml kloroform. Lakukan metode kromatografi lapis tipis seperti yang tertera pada penetapan DDVP menggunakan 10  $\mu$ l.
- B. Spektrum serapan tidak lebih dari 200 nm.

C. Suhu lebur 77°—81°C

**Larutan dalam asam sulfat.** Larutkan 1 g zat dalam 5 ml asam sulfat 96%v/v. Larutan jernih dan tidak berwarna.

**Dimetoksi diklorovinil fosfat (DDVP).** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel F<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan 1 g zat standar internal 10 ml kloroform.

**Larutan standar.** Larutkan 10 mg DDVP dalam 100 ml kloroform.

**Fase gerak.** Campur 10 volume etil asetat dan 1 volume asam asetat glasial.

Totolkan 10  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Semprot dengan larutan p-nitrobenzil piridin 5% b/v dan panaskan pada suhu 120°C selama 15 menit. Semprot kembali lempeng yang masih panas dengan larutan tetraetilen pentamin 10% b/v. Terbentuk bercak biru gelap dan bercak akan segera hilang.

**Dimetilester (2,2,2-trikloro-1-hidroksi etil-fosfat (DMN)).** Lakukan metode kromatografi lapis tipis seperti yang tertera pada penetapan DDVP, menggunakan larutan uji: Larutkan 11 mg natrium DMN dalam 2 ml metanol dan encerkan dengan kloroform sampai batas volume 50 ml.

**Klorida.** Pada 5 g zat, tambah 30 ml etanol (96%) dan campur 100 ml air dengan 15 ml asam nitrat 65%. Titrasi secara potensiometrik dengan perak nitrat 0,1 N menggunakan elektroda perak. Setiap ml perak nitrat 0,1 N setara dengan 3,546 mg klorida.

**Penetapan kadar**

Larutkan 0,5 g triklorfon dalam 30 ml etanol (96%) dan tambah 10 ml etanolamin. Sumbat, biarkan pada suhu 20°—22°C selama 1 jam. Tambah campuran 100 ml air dengan 15 ml asam nitrat (65%), dinginkan segera pada suhu 20°—22°C. Lakukan titrasi seperti yang tertera pada penetapan klorida menggunakan elektroda perak. Perhitungan kadar dilakukan dengan rumus:

$$2,575 \left( \frac{ml_p}{e_p} - \frac{ml_{cl}}{e_{cl}} \right)$$

Keterangan:

$ml_p$  = penitar yang dibutuhkan untuk larutan uji.

$ml_{cl}$  = penitar yang dibutuhkan untuk klorida.

$e_p$  = jumlah zat yang ditimbang untuk larutan uji.

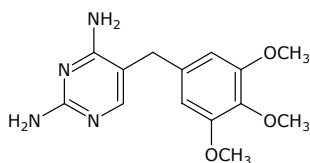
$e_{cl}$  = jumlah zat yang ditimbang untuk uji klorida.

**Khasiat**

Obat cacing.

## Trimetoprim

*Trimethoprim*



$C_{14}H_{18}N_4O_3$

BM: 290,3

[738-70-5]

### Definisi

Trimetoprim adalah 5-(3,4,5-trimetoksi benzil)pirimidin-2,4-diamin.

Mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau putih kekuningan.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, sukar larut dalam alkohol.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: C.

Identifikasi kedua: A, B, D.

A. Suhu lebur  $199^{\circ}$ — $203^{\circ}$ C.

B. Larutkan dan encerkan 20 mg dalam natrium hidroksida 0,1 M sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan natrium hidroksida 0,1 M sampai volume 10,0 ml. Periksa pada panjang gelombang 230 nm dan 350 nm, menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 287 nm. Serapan spesifik maksimum adalah 240—250.

C. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar trimetoprim.

D. Larutkan 25 mg dalam 5 ml asam sulfat 0,005 M, panaskan jika diperlukan dan tambah 2 ml kalium permanganat (16 g/l) dalam natrium hidroksida 0,1 M. Didihkan dan tambah 0,4 ml formaldehid. Aduk, tambah 1 ml asam sulfat 0,5 M, aduk dan didihkan. Dinginkan dan saring. Pada hasil saringan tambah 2 ml metilen klorida dan kocok dengan kuat. Periksa fase organik dengan cahaya ultraviolet (365 nm), menunjukkan hijau fluoresen.

**Kejernihan larutan.** Larutan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar BY<sub>7</sub>. Larutkan 0,5 g dalam 10 ml campuran 1 volume air, 4,5 volume metanol dan 5 volume metilen klorida.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan salah satu metode berikut:

A. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 25,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 200,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 5,0 mg standar trimetoprim dan 2,5 mg standar

ketidakmurnian trimetoprim E dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil 5  $\mu$ m, ukuran 25 cm x 4,0 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 30 volume metanol dan 70 volume natrium perklorat (1,4 g/l, atur pH 3,6 dengan asam fosfat).

**Laju alir.** 1,3 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

**Injek.** 20  $\mu$ l.

**Waktu uji.** 11 kali waktu tambat trimetoprim.

**Waktu tambat relatif.** Standar trimetoprim sekitar 5 menit, ketidakmurnian C sekitar 0,8; E sekitar 0,9; A sekitar 1,5; D sekitar 2,0; G sekitar 2,1; B sekitar 2,3; J sekitar 2,7 dan F sekitar 4,0.

**Kesesuaian sistem larutan standar (b).** Resolusi minimum 2,5 antar puncak.

### Batas

**Faktor koreksi.** Mengalikan area puncak ketidakmurnian B dengan 0,43; E dengan 0,53 dan J dengan 0,66.

**Ketidakmurnian lain.** Tidak lebih dari 0,2 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,1%).

**Total.** Tidak lebih dari 0,4 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,2%).

**Abaikan batas.** 0,04 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,02%), abaikan puncak lain pada ketidakmurnian H (waktu tambat relatif sekitar 10,3).

B. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 25,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai batas volume 25,0 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 200,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 5,0 mg standar trimetoprim dan 5,0 mg standar trimetoprim ketidakmurnian B dalam fase gerak sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Kolom.** Silika gel nitril 5  $\mu$ m, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Larutkan 1,14 g natrium heksan sulfonat dalam 600 ml kalium dihidrogen fosfat (13,6 g/l, atur pH 3,1 dengan asam fosfat) dan campur dengan 400 volume metanol.

**Laju alir.** 0,8 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

**Injek.** 20  $\mu$ l.

**Waktu uji.** 6 kali waktu tambat trimetoprim.

**Waktu tambat relatif.** Standar trimetoprim sekitar 4 menit, ketidakh murnian H sekitar 1,8, ketidakh murnian I sekitar 4,9.

**Kesesuaian sistem larutan standar (b).** Resolusi minimum 2,0 antar puncak.

#### Batas

**Faktor koreksi.** Mengalikan area puncak ketidakh murnian H dengan 0,50, ketidakh murnian I dengan 0,28.

**Ketidakh murnian lain.** Tidak lebih dari 0,2 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,1%).

**Total.** Tidak lebih dari 0,4 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,2%).

**Abaikan batas.** 0,04 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,02%), abaikan puncak lain pada ketidakh murnian B (waktu tambat relatif sekitar 1,3).

**Ketidakh murnian K.** Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 0,5 g zat uji dalam 35,0 ml dapar sitrat pH 5,0, tambah 10,0 ml 1,1-dimetil etil metil eter, kocok dan sentrifus selama 10 menit. Gunakan lapisan atas.

**Larutan standar.** Encerkan 5,0 ml asam hidroklorida dengan air sampai batas volume 50,0 ml. Tambah 12,5 mg anilin dan kocok (larutan A). Pada 35,0 ml dapar sitrat pH 5,0, tambah 10,0 µl larutan A dan 10,0 ml metil 1,1-dimetil etil metil eter, kocok dan sentrifus selama 10 menit. Gunakan lapisan atas.

**Kolom.** Silika polidimetilsiloksan, ukuran 30 m x 0,53 mm atau yang sesuai, suhu kolom 80°C, suhu injector 230°C.

**Gas pembawa.** Helium.

**Laju alir.** 12 ml/menit.

**Detektor.** Nitrogen-fosfor, suhu 270°C.

**Injek.** 3 µl.

**Waktu uji.** 15 menit.

**Kesesuaian sistem larutan standar.** Simpangan baku relatif maksimum 5,0%.

#### Batas

**Ketidakh murnian K.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (5 ppm).

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Pada 1,0 g memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

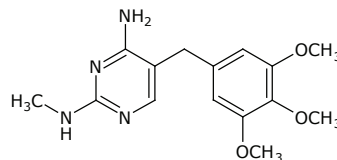
**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

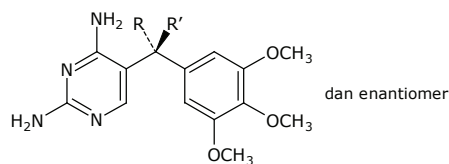
#### Penetapan kadar

Larutkan 0,25 g dalam 50 ml asam asetat anhidrat. Titrasi dengan asam perklorat 0,1M, tentukan titik akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 29,03 mg  $C_{14}H_{18}N_4O_3$ .

#### Ketidakh murnian

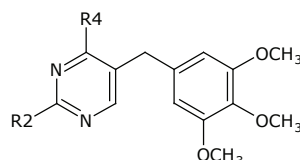


A. N2-metil-5-(3,4,5-trimetoksibenzil)pirimidin-2,4-diamina.



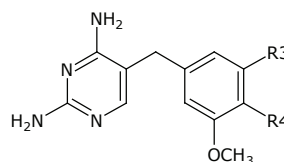
B.  $R + R' = O$ : (2,4-diaminopirimidin-5-il) (3,4,5-trimetoksifenil)metanon.

C.  $R = OH, R' = H$ : (RS)-(2,4-diamino pirimidin-5-il) (3,4,5-trimetoksi fenil)metanol.



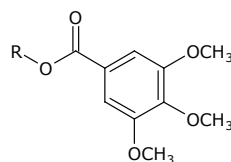
D.  $R_2 = NH_2, R_4 = OH$ : 2-amino-5-(3,4,5-trimetoksibenzil)pirimidin-4-ol.

E.  $R_2 = OH, R_4 = NH_2$ : 4-amino-5-(3,4,5-trimetoksibenzil)pirimidin-2-ol.



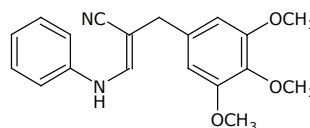
F.  $R_3 = Br, R_4 = OCH_3$ : 5-(3-bromo-4,5-dimetoksibenzil)pirimidin-2,4-diamina.

G.  $R_3 = OCH_3, R_4 = OC_2H_5$ : 5-(4-ethoxy-3,5-dimetoksibenzil)pirimidin-2,4-diamina.

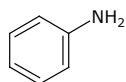


H.  $R = CH_3$ : Metil 3,4,5-trimetoksibenzoat.

J.  $R = H$ : Asam 3,4,5-trimetoksibenzoat.



I. 3-(fenilamino)-2-(3,4,5-trimetoksibenzil)prop-2-enitril.



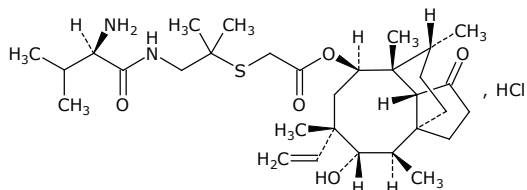
K. Anilina.

### Khasiat

Anti-bakteri.

## Valnemulin Hidroklorida

*Valnemulin Hydrochloride*



$C_{31}H_{52}N_2O_5S \cdot HCl$

BM: 601

[101312-92-9]

### Definisi

Valnemulin hidroklorida adalah (3aS,4R,5S, 6S,8R,9R, 9aR,10R)-6-Etenil-5-hidroks-4,6,9,10-tetrametil-1-oksodekahidro-3a,9-propano-3a H-siklopenta[8] annulen-8-il[[2-[[[(2R)-2-amino-3-metilbutanoil]amino]-1,1-dimetilet] sulfanil] asetat hidroklorida.

Mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 102,0%, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau kekuningan, higroskopik.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air dan etanol anhidrat, Praktis tidak larut dalam ter-butil metil eter.

### Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar valnemulin hidroklorida.

B. Memberikan reaksi klorida.

**pH.** 3,0—6,0. Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air bebas karbondioksida sampai volume 20 ml.

**Rotasi jenis.** Antara  $+15,5^\circ$  sampai  $+18,0^\circ$  (zat anhidrat). Larutkan dan encerkan 0,250 g dalam air sampai volume 25,0 ml.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Dapar fosfat pH 2,5.** Larutkan dan encerkan 8,0 g dinatrium hidrogen fosfat dan 3,0 g kalium dihidrogen fosfat dalam air sampai batas volume 1000,0 ml. Atur pH 2,5 dengan asam fosfat.

**Pelarut.** Campur asetonitril dan air dengan volume yang sama.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam pelarut sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Encerkan 1,0 ml larutan uji dalam pelarut sampai volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 5 mg ketidakhurnian valnemulin E dan 5 mg valnemulin hidrogen tartrat dalam pelarut sampai batas volume 25 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 10 mg valnemulin untuk identifikasi puncak (mengandung ketidakhurnian A, B dan C) dalam pelarut sampai 1 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 3  $\mu$ m, 15 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 50°C.

**Fase gerak A.** Campur dapar fosfat pH 2,5 dan air (25:75 v/v).

**Fase gerak B.** Campur dapar fosfat pH 2,5 dan asetonitril (25:75 v/v).

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0—2	95 → 55	5 → 45
2—4,5	55 → 50	45 → 50
4,5—5,5	50 → 35	50 → 65
5,5—6,85	35	65
6,85—10	35 → 0	65 → 100
10—13	0	100
13—14	0 → 95	100 → 5
14—20	95	5

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 200 nm.

**Injek.** 5  $\mu$ l.

**Identifikasi dari ketidakhurnian.** Gunakan kromatogram dengan valnemulin untuk identifikasi puncak dan kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) untuk identifikasi puncak ketidakhurnian A, B dan C.

**Waktuambat relatif.** Valnemulin sekitar 7 menit, ketidakhurnian D sekitar 0,2, ketidakhurnian A sekitar 0,7, ketidakhurnian B sekitar 0,85, ketidakhurnian E sekitar 0,9, ketidakhurnian C sekitar 1,1.

**Kesesuaian sistem larutan standar (b).** Resolusi minimum 1,5 antara puncak ketidakhurnian E dan valnemulin.

### Batas

**Faktor koreksi.** Untuk menghitung isi dengan mengalikan area puncak ketidakhurnian dan faktor koreksi yang berhubungan dengan ketidakhurnian B 3,2 dan ketidakhurnian E 4,2.

**Ketidakhurnian A.** Tidak lebih dari 0,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,5%).

**Ketidakhurnian B.** Tidak lebih dari dua kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (2,0%).

**Ketidakhurnian C.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (1,0%).

**Ketidakh murnian lain.** Untuk setiap ketidakh murnian tidak lebih dari 0,2 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,2%).

**Total.** Tidak lebih dari 3 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (3,0%).

**Abaikan batas.** 0,1 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (a) (0,1%).

**Air.** Tidak lebih dari 4,0%, gunakan 0,5 g.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 40,0 mg zat uji dalam campuran asetonitril dan air dengan volume yang sama sampai volume 50,0 ml.

**Larutan standar.** Larutkan 50,0 mg valnemulin hidrogen tartrat dengan pelarut yang sama sampai batas volume 50,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil, 12,5 cm x 4,6 mm, suhu 45°C.

**Fase gerak.** Campur 43 volume asetonitril dan 57 volume larutan mengandung dinatrium hidrogen fosfat (0,94 g/l) dan kalium dihidrogen fosfat (8,7 g/l), atur pH 2,5 dengan asam fosfat.

**Laju alir.** 1,2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 210 nm.

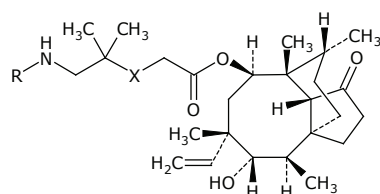
**Injek.** 5 µl.

**Waktu uji.** 3 kali waktu tambat valnemulin sekitar 2,4 menit.

#### Penyimpanan

Kedap udara, dilindungi dari cahaya.

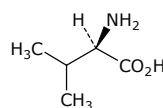
#### Ketidakh murnian



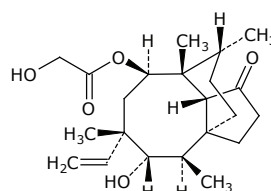
A. R = d-Val, X = (3aS,4R,5S,6S,8R,9R, 9aR,10R)-6-etenil-5-hidroksi-4,6,9,10-tetrametil-1-oksodekahiidro-3a,9-propano-3aH-siklopenta[8]annulen-8-il[[2-[[[(2R)-2-amino-3-metil butanoil]amino]-1,1-dimetiletill]sulfanil]asetat (valnemulin sulfoksida).

B. R = H, X = S: (3aS,4R,5S,6S,8R,9R,9aR,10R)-6-etenil-5-hidroksi-4,6,9,10-tetrametil-1-oksodekahiidro-3a,9-propano-3aH-siklopenta[8]annulen-8-il[(2-amino-1,1-dimetiletill]sulfanil]asetat (dimetil sisteaminil pleuromulin).

C. R = d-Val-d-Val, X = S: (3aS,4R,5S,6S,8R,9R,9aR, 10R)-6-etenil-5-hidroksi-4,6,9,10-tetrametil-1-oksodekahiidro-3a,9-propano-3aH-siklopenta[8]annulen-8-il[[2-[[[(2R)-2-[[[(2R)-2-amino-3-metilbutanoil]amino]-3-metilbutanoil]amino]-1,1-dimetiletill]sulfanil]asetat (valil valnemulin).



D. Asam (2R)-2-amino-3-metilbutanoat (d-valin).



E. (3aS,4R,5S,6S,8R,9R,9aR,10R)-6-etenil-5-hidroksi-4,6,9,10-tetrametil-1-oksodekahiidro-3a,9-propano-3aH-siklopenta[8]annulen-8-il 2-hidroksi asetat (pleuromulin).

## Virginiamisin

*Virginiamycin*

[11006-76-1]

#### Definisi

Virginiamisin adalah senyawa anti-bakteri yang dihasilkan dari *Streptomyces virginiae* atau dengan cara lain yang sesuai. Virginiamisin mengandung virginiamisin M dan virginiamisin S.

#### Karakteristik

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air.

#### Identifikasi

Pada kromatogram yang diperoleh pada penetapan kadar, waktu tambat yang diperoleh larutan uji sama dengan waktu tambat yang diperoleh dengan standar virginiamisin.

#### Penetapan potensi

Lakukan penetapan potensi seperti yang tertera dalam Penetapan Hayati Antibiotik.

#### Penyimpanan

Dilindung dari cahaya.

#### Khasiat

Anti-bakteri.



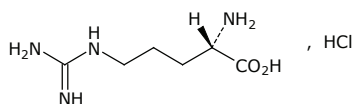
# **MONOGRAFI SUPLEMEN NUTRISI**





## Arginin Hidroklorida

*Arginine Hydrochloride*



$C_6H_{14}N_4O_2, HCl$

BM : 210,7

[1119-34-2]

### Definisi

Arginin hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% dari hidroklorida dari asam (S)-2-amino-5-guanidinopentanoat, dihidrat dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kristal tidak berwarna.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, sukar larut dalam alkohol.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B, E.

Identifikasi kedua: A, C, D, E.

- A. Memenuhi uji rotasi jenis.
- B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar arginin hidroklorida.
- C. Periksa kromatogram yang diperoleh pada uji zat positif ninhidrin. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar.
- D. Larutkan 25 mg dalam 2 ml air. Tambah 1 ml  $\alpha$ -naftol (larutkan 0,1 g dalam 3 ml natrium hidroksida 15% b/v dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml, larutan harus segar) dan 2 ml campuran asam hipoklorit pekat dan air dengan volume yang sama. Terbentuk warna merah.
- E. Pada 20 mg, memberikan reaksi klorida.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air sampai batas volume 50 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S adalah jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan dengan larutan standar BY<sub>6</sub>.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam asam hidroklorida (25% b/v dalam air) sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis +21,0 sampai +23,5, dihitung dengan setandar terhadap zat kering.

**Senyawa positif ninhidrin.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam air sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg

standar arginin hidroklorida dalam air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5 ml larutan uji (b) dengan air sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar arginin hidroklorida dan 10 mg standar lisin hidroklorida dalam air sampai batas volume 25 ml.

**Fase gerak.** Campur 30 volume amonia pekat dan 70 volume 2-propanol.

Totolkan 5  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Panaskan lempeng pada suhu 105°C sampai amonia hilang sempurna. Semprot dengan larutan ninhidrin (ninhidrin 0,2% b/v dalam campuran 95 volume butan-1-ol dan 5 volume asam asetat 2 M) dan panaskan pada suhu 105°C selama 15 menit. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), merupakan bagian bercak utama, adalah tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%). Uji tidak absah, kecuali jika kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) menunjukkan 2 bercak yang terpisah.

**Sulfat.** Encerkan 10 ml larutan S dengan air sampai 1 volume 5 ml. Larutan memenuhi uji batas sulfat (300 ppm).

**Amonium.** Pada 50 mg, memenuhi uji batas amonium (200 ppm). Gunakan 0,1 ml standar amonium (100 ppm  $NH_4$ ).

**Besi.** Larutkan 1,0 g dalam 10 asam hidroklorida encer. Ekstraksi 3 kali masing-masing dengan 10 ml metil isobutil keton (campur 50 ml 4-metilpentan-2-on hasil penyulingan yang masih segar dengan 0,5 ml asam hidroklorida 7 M, kocok selama 1 menit, biarkan terpisah, buang lapisan bawah, larutan harus segar) kocok selama 3 menit. Campur fase organik, tambah 10 ml air, kocok selama 3 menit. Fase air memenuhi uji batas besi (10 ppm).

**Logam berat.** Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air sampai volume 20 ml. Pada 12 ml, memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

### Penetapan kadar

Larutkan 0,18 g dalam 3 ml asam format anhidrat. Tambah 30 ml asam asetat anhidrat dan 0,1 ml naftolbenzen. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M sampai terbentuk warna hijau. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 21,07 mg of  $C_6H_{15}ClN_4O_2$ .

### Penyimpanan

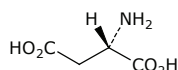
Dilindungi dari cahaya.

### Khasiat

Asam amino.

## Asam Aspartat

*Aspartic Acid*



$C_4H_7NO_4$

BM : 133,1

[6899-03-2]

### Definisi

Asam aspartat mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,5% dari asam (2S)-2-aminobutanedioat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kristal tidak berwarna.

**Kelarutan.** Sukar larut dalam air, praktis tidak larut dalam alkohol. Larut dalam asam mineral dan alkali hidroksida encer.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, C.

Identifikasi kedua: A, B, D.

- Memenuhi uji rotasi jenis.
- Suspensi 1 g/10 ml air adalah asam kuat.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar asam aspartat
- Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji zat positif ninhidrin. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

**Kejernihan larutan.** Larutkan dan encerkan 0,5 g dengan asam hidroklorida 1M sampai volume 10 ml. Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibanding dengan larutan standar BY<sub>6</sub>.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 2,0 g dengan asam hidroklorida (20% b/v) sampai 25,0 ml. Rotasi jenis +24,0 sampai +26,0, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa positif ninhidrin.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam air sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar asam aspartat dalam air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5 ml larutan uji (b) dengan air sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar asam aspartat dan 10 mg standar asam glutamat dalam air sampai volume 25 ml.

**Fase gerak.** Campur 20 volume asam asetat glasial, 70 volume butanol.

Totolkan secara terpisah 5 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Panaskan lempeng pada suhu 105°C sampai amonia hilang sempurna. Semprot dengan larutan ninhidrin (ninhidrin 0,2% b/v dalam campuran 95 volume butan-1-ol dan 5 volume asam asetat 2M) dan panaskan pada suhu 105°C selama 15 menit. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), merupakan bagian bercak utama, adalah tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%). Uji tidak absah, kecuali jika kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) menunjukkan 2 bercak yang terpisah.

**Klorida.** Larutkan 0,25 g dalam 3 ml asam nitrat encer, encerkan dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas klorida (200 ppm).

**Sulfat.** Larutkan 0,5 g dalam 4 ml asam hidroklorida, encerkan dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas sulfat (300 ppm).

**Amonium.** Pada 50 mg, memenuhi uji batas amonium (200 ppm). Gunakan 0,1 ml standar amonium (100 ppm NH<sub>4</sub>).

**Besi.** Larutkan 1,0 g dalam 10 ml asam hidroklorida encer. Ekstraksi 3 kali masing-masing dengan 10 ml metil isobutil keton (campur 50 ml 4-metilpentan-2-on hasil penyulingan yang masih segar dengan 0,5 ml asam hidroklorida 7M, kocok selama 1 menit, biarkan terpisah, buang lapisan bawah, larutan harus segar) kocok selama 3 menit. Campur fase organik, tambah 10 ml air, kocok selama 3 menit. Memenuhi uji batas besi (10 ppm).

**Logam berat.** Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air sampai volume 20 ml. Pada 12 ml, memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan setandar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1 g.

### Penetapan kadar

Larutkan 0,1 g dalam 50 ml air bebas karbondioksida, jika perlu, panaskan. Dinginkan dan tambah 0,1 ml biru bromotimol. Titrasi dengan natrium hidroksida 0,1M sampai terbentuk warna biru. Setiap ml natrium hidroksida 0,1M setara dengan 13,31 mg C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>4</sub>.

### Penyimpanan

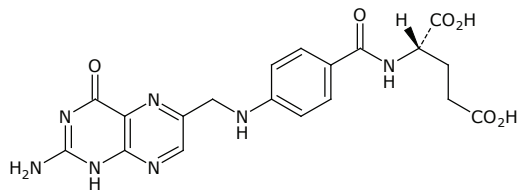
Dilindungi dari cahaya.

### Khasiat

Asam amino.

## Asam Folat

*Folic Acid*

C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub>

BM : 441,4

[59-30-3]

### Definisi

Asam folat adalah asam (2S)-2-[[4-[[[2-amino-4-okso-1,4-dihidropteridin-6-il)metil]amino]benzoi]amino]pentandioat.

Mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 102,0%, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal kekuningan atau jingga.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air dan sebagian besar pelarut organik. Larut dalam asam dan alkali encer.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: A, C.

- A. Memenuhi uji rotasi jenis.
- B. Periksa kromatogram yang diperoleh dalam penetapan kadar. Waktu tambat puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sama dengan puncak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- C. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 50 mg zat uji dalam campuran 2 volume amoniak pekat dan 9 volume metanol sampai batas volume 100 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 50 mg standar asam folat dalam campuran 2 volume amoniak pekat dan 9 volume metanol sampai batas volume 100 ml.

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur amoniak pekat, propanol, alkohol (20:20:60 v/v/v).

Totolkan 2 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (365 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, ukuran dan berfluoresensi terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar.

**Rotasi jenis.** +18 sampai +22 (zat anhidrat). Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam natrium hidroksida 0,1M sampai 25,0 ml.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 0,1 g zat uji dalam 5 ml natrium karbonat (28,6 g/l) dan encerkan dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 2,0 ml larutan dengan fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 0,1 g standar asam folat dalam 5 ml natrium karbonat (28,6 g/l) dan encerkan dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 2,0 ml larutan dengan fase gerak sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan 20 mg asam pteroiat dalam 5 ml natrium karbonat (28,6 g/l) dan encerkan dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 2,0 ml larutan dengan fase gerak sampai 10,0 ml. Campur 1,0 ml larutan dengan 1,0 ml larutan standar (a) dan encerkan dengan fase gerak sampai 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 2,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai 20,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan fase gerak sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan 10,0 mg N-(4-amino-benzoi)-asam l-glutamat dalam 1 ml natrium karbonat (28,6 g/l) dan encerkan dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (e).** Larutkan 12,0 mg asam pteroiat dalam 1 ml natrium karbonat (28,6 g/l) dan encerkan dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan fase gerak sampai volume 100,0 ml.

**Kolom.** Oktisilil 5 µm, 25 cm x 4,0 mm.

**Fase gerak.** Campur 12 volume metanol dan 88 volume larutan mengandung kalium dihidrogen fosfat (11,16 g/l) dan dikalium hidrogen fosfat (5,50 g/l).

**Laju alir.** 0,6 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

**Injek.** 5 µl larutan uji dan larutan standar (b), (c), (d) dan (e).

**Waktu uji.** 3 kali waktu tambat asam folat.

**Waktu tambat relatif.** Asam folat sekitar 8,5 menit, ketidakhurnian A sekitar 0,5, ketidakhurnian B sekitar 0,6, ketidakhurnian C sekitar 0,9, ketidakhurnian E sekitar 1,27, ketidakhurnian D sekitar 1,33, ketidakhurnian F sekitar 2,2.

**Kesesuaian sistem larutan standar (b).** Resolusi tidak kurang dari 4,0 antara puncak asam folat dan ketidakhurnian D.

### Batas

**Ketidakhurnian A.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (d) (0,5%).

**Ketidakhurnian D.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e) (0,6%).

**Ketidakhurnian lain.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,5%).

**Jumlah ketidakmurnian lain.** Tidak lebih dari 2 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (1,0%).

**Abaikan batas.** 0,1 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,05%).

**Air.** 5,0%—8,5%. Gunakan 0,15 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,2%. Gunakan 1g.

### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair seperti yang tertera dala uji senyawa sejenis, menggunakan larutan uji dan larutan standar (a).

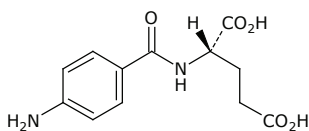
### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

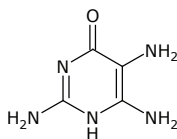
### Khasiat

Untuk penanganan kekurangan darah merah.

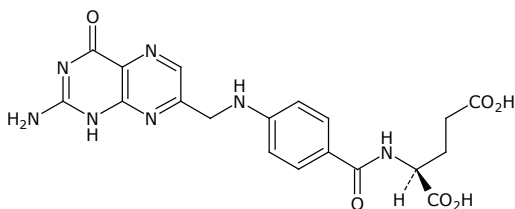
### Ketidakmurnian



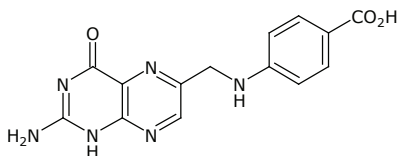
A. Asam (2S)-2-[(4-aminobenzoil)amino]pentanadioat (asam N-(4-aminobenzoil)-L-glutamat).



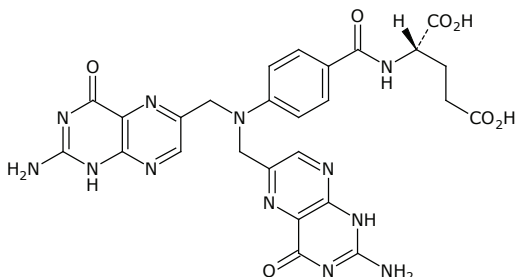
B. 2,5,6-triaminopirimidin-4(1H)-on.



C. Asam (2S)-2-[[4-[(2-amino-4-okso-1,4-dihidropteridin-7-il)metil]amino]benzoil]amino]pentanadioat (asam isofolat).

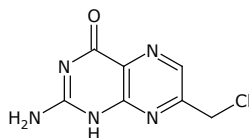


D. Asam 4-[[[(2-amino-4-okso-1,4-dihidropteridin-6-il)metil]amino]benzoat (asam pterooat).



E. Asam (2S)-2-[[4-[bis[(2-amino-4-okso-1,4-dihidro-

pteridin-6-il)metil]amino]benzoil]amino]pentanadioat (asam 6-pterinilfolat).



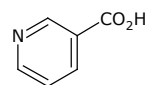
F. 2-amino-7-(klorometil)pteridin-4(1H)-on.

### Khasiat

Asam amino.

## Asam Nikotinat

*Nicotinic Acid*



$C_6H_5NO_2$

BM : 123,1

[59-67-6]

### Definisi

Asam nikotinat mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 100,5% dari piridin-3-asam karboksilat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Larut dalam air mendidih dan alkohol, agak sukar larut dalam air. Larut dalam alkali hidroksida encer dan karbonat.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: A, C.

A. Suhu lebur  $234^{\circ}$ — $240^{\circ}C$ .

B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar asam nikotinat.

C. Larutkan 10 mg dalam 10 ml air. Pada 2 ml larutan, tambah sianogen bromida, 3 ml anilin 25 g/l dan aduk. Terbentuk warna kuning.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan :

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,5 g zat uji dalam air, sambil dipanaskan.

**Larutan standar.** Encerkan 0,5 ml larutan uji dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Fase gerak.** Campur 5 volume air, 10 volume asam format anhidrat dan 85 volume propanol.

Totolkan 5  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu  $105^{\circ}C$  selama 10 menit. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, dari bagian bercak utama, tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (0,5%).

**Klorida.** Larutkan 0,25 g dalam air, panaskan di atas penangas air dan encerkan dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas klorida (200 ppm).

**Logam berat.** Pada 1,0g g memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0.g

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,25 g dalam 50 ml air. Titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 M, gunakan 0,25 ml fenolftalein sebagai indikator, sampai terbentuk warna merah muda. Lakukan titrasi blanko. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 12,31 mg  $C_6H_5NO_2$ .

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Komponen vitamin B.

## Besi Dekstran

*Iron Dextran*

Fe                      BM : 55,847                      [9004-66-4]

#### Definisi

Mengandung besi tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dan dekstran tidak kurang dari 85,0% dan tidak lebih dari 115,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Larutan kental coklat gelap.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air dan alkohol, agak sukar larut dalam larutan asam mineral.

#### Identifikasi

- A. Pada 1 ml zat uji, tambah 20 ml air dan 5 ml asam hidroklorida. Didihkan selama 5 menit, dinginkan, tambahkan amoniak berlebihan, dan saring. Bilas endapan dengan air, kemudian larutkan dengan asam hidroklorida 2M. Encerkan dengan air sampai volume 20 ml. Larutan menunjukkan reaksi garam besi.
- B. Encerkan 1 ml sediaan dengan air sampai batas volume 100 ml. Pada 5 ml larutan, tambah 0,1 ml asam hidroklorida, didihkan selama 30 detik. Dinginkan dengan cepat, tambah 2 ml amonia dan 5 ml larutan hidrogen sulfida, didihkan, dinginkan dan saring. Didihkan 5 ml hasil saringan dengan 5 ml kalium tartat, terbentuk warna hijau dan tidak terbentuk endapan.
- C. Pada 5 ml hasil saringan, didihkan dengan 0,5 ml asam hidroklorida selama 5 menit. Dinginkan dan tambah 2,5 ml natrium hidroksida 5M dan 5 ml kalsium tartat, didihkan. Terbentuk endapan kemerahan.

#### Penetapan kadar

**Besi.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji : Pada zat uji setara dengan 100 mg besi, tambah 10 ml asam nitrat, 10 ml asam sulfat dan batu didih. Panaskan sampai uap terbentuk sulfur trioksida dan dinginkan. Tambah 3 ml asam nitrat dan panaskan sampai terbentuk uap trioksida. Tambah asam nitrat, panaskan sampai warna larutan jernih kuning- kehijauan. Panaskan selama 30 menit, dinginkan dan tambah 100 ml air. Panaskan kembali dan dinginkan. Encerkan larutan dengan air sampai batas volume 500 ml. Pada 5 ml larutan, tambah 100 ml air dan 1 g asam askorbat, encerkan dengan air sampai batas volume 500 ml. Pada 5 ml, tambah 3 ml larutan 2,2-bipiridin, aduk dan biarkan 15 menit. Ukur pada panjang gelombang 510 nm.

**Dekstran.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan: Encerkan 1 ml zat uji dengan air sampai batas volume 1000 ml. Pada 15 ml larutan, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml. Pindahkan 3 ml larutan ke dalam tabung dan dinginkan sampai 0°C. Pada lapisan bawah yang terbentuk, tambah 6 ml antron 0,2% (dalam larutan 19 volume asam sulfat dan 1 volume air). Aduk, panaskan di atas penangas air selama 5 menit dan dinginkan. Ukur pada panjang gelombang 625 nm. Setiap g standar D-glukosa setara dengan 0,94 g dekstran.

#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup baik, cegah terjadinya perubahan suhu.

#### Khasiat.

Anti anemia.

## Besi Dekstran Injeksi

#### Definisi

Besi dekstran injeksi adalah larutan koloid steril besi (III) hidroksida kompleks dengan dekstran yang berat molekulnya antara 5.000—7.500 dalam air untuk injeksi. Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung masing-masing tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

- A. Pada 1 ml sediaan, tambah dengan 20 ml air dan 5 ml asam klorida. Didihkan selama 5 menit, dinginkan, tambah amonia berlebihan, dan saring. Bilas endapan dengan air, larutkan endapan dengan asam hidroklorida 2M. Encerkan dengan air sampai volume 20 ml. Larutan menunjukkan reaksi garam besi.
- B. Encerkan 1 ml sediaan dengan air sampai batas volume 100 ml. Pada 5 ml larutan, tambah 0,1 ml asam hidroklorida, didihkan selama 30 detik. Dinginkan, tambah 2 ml amonia dan 5 ml larutan hidrogen sulfida, didihkan, dinginkan dan saring. Didihkan 5 ml hasil saringan dengan 5 ml kalium kurpirtarat, terbentuk warna kehijauan dan tidak

terbentuk endapan. Pada 5 ml hasil saringan dididihkan dengan 0,5 ml asam hidroklorida selama 5 menit. Dinginkan dan tambah 2,5 ml natrium hidroksida 5M dan 5 ml kalsium kupritartat, dididihkan kembali. Terbentuk endapan kemerahan.

### Penetapan kadar

**Besi.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Pada zat uji setara dengan 100 mg besi, tambah 10 ml asam nitrat, 10 ml asam sulfat dan batu didih. Panaskan sampai uap terbentuk sulfur trioksida dan dinginkan. Tambah 3 ml asam nitrat dan panaskan sampai terbentuk uap trioksida. Tambah asam nitrat, panaskan sampai warna larutan jernih kuning- kehijauan. Panaskan selama 30 menit, dinginkan dan tambah 100 ml air. Panaskan kembali dan dinginkan. Encerkan larutan dengan air sampai batas volume 500 ml. Pada 5 ml larutan, tambah 100 ml air dan 1 g asam askorbat, encerkan dengan air sampai batas volume 500 ml. Pada 5 ml, tambah 3 ml larutan 2,2-bipiridin, aduk dan biarkan 15 menit. Ukur pada panjang gelombang 510 nm.

**Dekstran.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan: Encerkan 1 ml zat uji dengan air sampai batas volume 1000 ml. Pada 15 ml larutan, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml. Pindahkan 3 ml larutan ke dalam tabung dan dinginkan sampai 0°C. Pada lapisan bawah yang terbentuk, tambah 6 ml antron 0,2% (dalam larutan 19 volume asam sulfat dan 1 volume air). Aduk, panaskan di atas penangas air selama 5 menit dan dinginkan. Ukur pada panjang gelombang 625 nm. Setiap g standar D-glukosa setara dengan 0,94 g dekstran.

### Penyimpanan

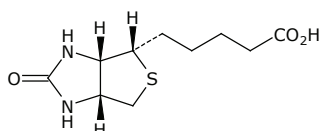
Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Biotin

*Biotin*



$C_{10}H_{16}N_2O_3S$

BM : 244,3

[58-85-5]

### Definisi

Biotin mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% dari asam 5-[(3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-oksoheksahidrotieno[3,4-*d*]imidazol-4-il]pentanoat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau tidak berwarna.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam alkohol, praktis tidak larut dalam aseton. Larut dalam alkali hidroksida encer.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A.

Identifikasi kedua: B, C.

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar biotin.
- Periksa kromatogram yang diperoleh pada uji Senyawa Sejenis. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- Larutkan 10 mg dalam 20 ml air, sambil dipanaskan, dinginkan, tambah 0,1 ml air brom. Air brom tidak berwarna.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam natrium hidroksida (4 g/l) sampai batas volume 25,0 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S adalah jernih dan tidak berwarna.

**Rotasi jenis.** Larutan S adalah +89 sampai +93, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel (5  $\mu$ m) atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 50 mg zat uji dalam asam asetat glasial sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan asam asetat sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 5 mg standar biotin dengan asam asetat glasial sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (b) dengan asam asetat sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan larutan uji (b) dengan asam asetat sampai volume 40 ml.

**Fase gerak.** Campur 5 volume metanol, 25 volume asam asetat glasial dan 75 volume toluen.

Totolkan 10  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan dengan udara hangat. Dinginkan dan semprot dengan larutan 4-dimetil-aminosinnamaldehida (larutkan 2 g 4-dimetil-aminosinnamaldehida dalam campuran 100 ml asam hidroklorida 7M dan 100 ml etanol absolut. Simpan dalam suhu dingin dan encerkan 4 kali masing-masing dengan etanol absolut, larutan harus segar). Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), merupakan bagian dari bercak utama, tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan terhadap bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%) dan lebih dari satu bercak lebih kuat intensitasnya dibandingkan terhadap bercak yang diperoleh larutan standar (c) (0,25%).

**Logam berat.** Pada 1,0 g memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan 10 ml standar timbal

(1 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

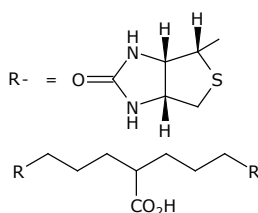
### Penetapan kadar

Suspensikan 0,2 g dalam 5 ml dimetilformamid. Panaskan sampai larut sempurna. Tambah 50 ml etanol dan titrasi dengan tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M. Tentukan titik akhir secara potensiometrik. Setiap ml tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M setara dengan 24,43 mg  $C_{10}H_{11}N_2O_3S$ .

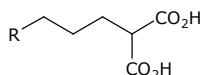
### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

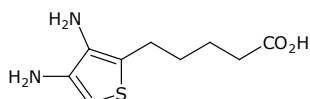
### Ketidakhurnian



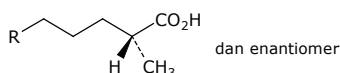
- A. Asam di[3-[(3aS,4S,6aR)-2-oksoheksahidrotieno[3,4-d]imidazol-4-il]propil]asetat.



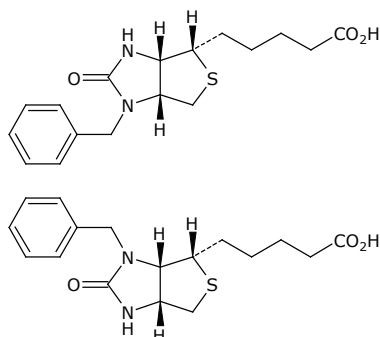
- B. Asam 4-[(3aS,4S,6aR)-2-oksoheksahidrotieno[3,4-d]imidazol-4-il]butana-1,1-dikarboksilat.



- C. Asam 5-(3,4-diamino-2-tienil)pentanoat.



- D. Asam 2-metil-5-[(3aS,4S,6aR)-2-oksoheksahidrotieno[3,4-d]imidazol-4-il]pentanoat.



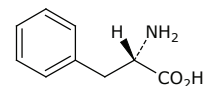
- E. Asam 5-[(3aS,4S,6aR)-3-benzil-2-oksoheksahidrotieno[3,4-d]imidazol-4-il]pentanoat dan asam 5-[(3aS,4S,6aR)-1-benzil-2-oksoheksahidrotieno[3,4-d]imidazol-4-il]pentanoat.

### Khasiat

Vitamin.

## Fenilalanin

*Phenylalanine*



$C_9H_{11}NO_2$

BM : 165,2

[63-91-2]

### Definisi

Fenilalanin hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% dari asam (S)-2-amino-3-fenilpropanoat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kristal terang.

**Kelarutan.** Agak sukar larut dalam air, sedikit larut dalam alkohol. Larut dalam asam mineral dan alkali hidroksida encer.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: A, C, D.

- Memenuhi uji rotasi jenis.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar fenilalanin.
- Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji zat positif ninhidrin. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- Pada 10 mg, tambah 0,5 g kalium nitrat dan 2 ml asam sulfat. Panaskan di atas penangas air selama 20 menit. Dinginkan, tambah 5 ml hidroksilamin hidroklorida (50 g/l) dan dinginkan dalam air es selama 10 menit. Tambah 9 ml natrium hidroksida pekat. Terbentuk warna violet-merah sampai violet coklat.

**Kejernihan larutan.** Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam asam hidroklorida sampai volume 10 ml. Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar BY<sub>6</sub>.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam air sampai volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah -33,0 sampai -35,5, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa positif ninhidrin.** Lakukan dengan kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam campuran asam asetat glasial dan air dengan volume yang sama sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dalam campuran asam asetat glasial dan air dengan volume yang sama sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar fenilalanin dalam campuran asam asetat glasial dan air dengan volume yang sama sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5 ml larutan uji (b) dalam campuran asam asetat glasial dan air dengan volume yang sama sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan 10 mg standar fenilalanin dan 10 mg standar tirosin dalam campuran asam asetat glasial dan air dengan volume yang sama sampai volume 25 ml.

**Fase gerak.** Campur 20 volume asam asetat glasial, 20 volume air dan 60 volume butanol.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan ninhidrin dan panaskan pada suhu 105°C selama 15 menit. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), merupakan bagian bercak utama, adalah tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%). Uji tidak absah, kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) menunjukkan 2 bercak yang terpisah.

**Klorida.** Larutkan 0,25 g dalam 3 ml asam nitrat encer dan encerkan dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas klorida (200 ppm).

**Sulfat.** Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam campuran 5 volume asam hidroklorida encer dengan 25 volume air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas sulfat (300 ppm).

**Amonium.** Pada 50 mg, memenuhi uji batas amonium (200 ppm). Gunakan 0,1 ml standar amonium (100 ppm NH<sub>4</sub>).

**Besi.** Larutkan 1,0 g dalam 10 asam hidroklorida encer. Ekstraksi 3 kali masing-masing dengan 10 ml metil isobutil keton (campur 50 ml 4-metilpentan-2-on hasil penyulingan yang masih segar dengan 0,5 ml asam hidroklorida 7 M, kocok selama 1 menit, biarkan terpisah, buang lapisan bawah, larutan harus segar) kocok selama 3 menit. Campur fase organik, tambah 10 ml air, kocok selama 3 menit. Memenuhi uji batas besi (10 ppm).

**Logam berat.** Pada 2,0 g, memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

### Penetapan kadar

Larutkan 0,1 g dalam 3 ml asam format anhidrat. Tambah 30 ml asam asetat anhidrat. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M. Tentukan titik akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 16,52 mg C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>.

### Penyimpanan

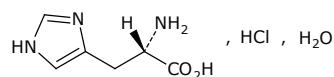
Dilindungi dari cahaya.

### Khasiat

Asam amino.

## Histidin Hidroklorida

### *Histidine Hydrochloride*



C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, HCl, H<sub>2</sub>O

BM : 209,6

[645-35-2]

### Definisi

Histidin hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% dari hidroklorida asam (S)-2-amino-3-(imidazol-4-il)propanoat, dihitungkan dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kristal tidak berwarna.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, sukar larut dalam alkohol.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B, C, F.

Identifikasi kedua: A, B, D, E, F.

- Memenuhi uji rotasi jenis.
- Memenuhi uji pH.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar histidin hidroklorida.
- Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji zat positif ninhidrin. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- Larutkan 0,1 g dalam 7 ml air dan tambah 3 ml natrium hidroksida (200 g/l). Larutkan 50 mg asam sulfanilat dalam campuran 0,1 ml asam hidroklorida dan 10 ml air dan tambah 0,1 ml natrium nitrit. Tambah pada larutan kedua ke dalam larutan satu dan aduk. Terbentuk warna jingga-merah.
- Pada 20 mg, memberikan reaksi klorida.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air sampai batas volume 50 ml.

**Kejernihan larutan.** Encerkan 10 ml larutan S dengan air sampai volume 20 ml. Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar BY<sub>6</sub>.

**pH.** larutan S 3,0—5,0.

**Rotasi jenis.** Larutkan 2,75 g dalam 12 ml asam hidroklorida dan encerkan dengan air sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah +9,2 sampai +10,6 (zat kering).

**Senyawa positif ninhidrin.** Lakukan dengan kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan 0,2 g zat uji dalam air sampai volume 10 ml. Pada 5 ml, tambah 5 ml N-etilmaleimida (40 g/l dalam alkohol). Biarkan selama 5 menit.



**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar histidin hidroklorida dalam air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 2 ml larutan standar (a) sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar histidin hidroklorida dan 10 mg standar prolin dalam air sampai batas volume 25 ml.

**Fase gerak.** Campur 20 volume asam asetat glasial, 20 volume air dan 60 volume butanol.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan, Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan larutan ninhidrin (ninhidrin 0,2% b/v dalam campuran 95 volume butan-1-ol dan 5 volume asam asetat 2M) dan panaskan pada suhu 105°C selama 15 menit. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), merupakan bagian bercak utama, tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan terhadap bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%). Uji tidak absah, kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) menunjukkan 2 bercak yang terpisah.

**Sulfat.** Encerkan 10 ml larutan S dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas sulfat (300 ppm).

**Amonium.** Pada 50 mg, memenuhi uji batas amonium (200 ppm). Gunakan 0,1 ml standar amonium (100 ppm NH<sub>4</sub>).

**Besi.** Larutkan 1,0 g dalam 10 asam hidroklorida encer. Ekstraksi 3 kali masing-masing dengan 10 ml metil isobutil keton (campur 50 ml 4-metilpentan-2-on hasil penyulingan yang masih segar dengan 0,5 ml asam hidroklorida 7M, kocok selama 1 menit, biarkan terpisah, buang lapisan bawah, larutan harus segar) kocok selama 3 menit. Campur fase organik, tambah 10 ml air, kocok selama 3 menit. Memenuhi uji batas besi (10 ppm).

**Logam berat.** Pada 2,0 g, memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** 7,0%—10,0%. Pada pengeringan dengan suhu 150°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,16 g dalam 50 ml air bebas karbondioksida. Titrasi dengan natrium hidroksida 0,1M. Tentukan titik akhir secara potensiometrik. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 19,16 mg C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>.

#### Penyimpanan

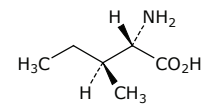
Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Asam amino.

## Isoleusin

*Isoleucine*



C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>

BM : 131,2

[73-32-5]

#### Definisi

Isoleusin mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% dari asam (2S,3S)-2-amino-3-metilpentanoat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Agak sukar larut dalam air, sedikit larut dalam alkohol. Larut dalam asam mineral encer dan alkali hidroksida encer.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, C.

Identifikasi kedua: A, B, D.

A. Memenuhi uji rotasi jenis.

B. Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam air sampai batas volume 25 ml. Larutan adalah dekstrorotatori.

C. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar isoleusin.

D. Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji zat positif ninhidrin. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada posisi, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

**Kejernihan larutan.** Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam asam hidroklorida 1M sampai volume 10 ml. Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan dengan larutan standar BY<sub>6</sub>.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam asam hidroklorida sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah +40,0 sampai +43,0, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa positif ninhidrin.** Lakukan dengan kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar isoleusin dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5 ml larutan uji (b) dengan air sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar isoleusin dan 10 mg standar valin dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 25 ml.

**Fase gerak.** Campur 20 volume asam asetat glasial, 20 volume air dan 60 volume butanol.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan larutan ninhidrin (ninhidrin 0,2% b/v dalam campuran 95 volume butan-1-ol dan 5 volume asam asetat 2M) dan panaskan pada suhu 105°C selama 15 menit. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), merupakan bagian bercak utama, tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan terhadap bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%). Uji tidak absah, kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) menunjukkan 2 bercak yang terpisah.

**Klorida.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas klorida (200 ppm).

**Sulfat.** Larutkan 0,5 g dalam asam hidroklorida encer dan encerkan dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas sulfat (300 ppm).

**Amonium.** Pada 50 mg, memenuhi uji batas amonium (200 ppm). Gunakan 0,1 ml standar amonium (100 ppm NH<sub>4</sub>).

**Besi.** Larutkan 1,0 g dalam 10 asam hidroklorida encer. Ekstraksi 3 kali masing-masing dengan 10 ml metil isobutil keton ( Campur 50 ml 4-metilpentan-2-on hasil penyulingan yang masih segar dengan 0,5 ml asam hidroklorida 7 M, kocok selama 1 menit, biarkan terpisah, buang lapisan bawah, larutan harus segar) kocok selama 3 menit. Campur fase organik, tambah 10 ml air, kocok selama 3 menit. Memenuhi uji batas besi (10 ppm).

**Logam berat.** Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air sampai volume 20 ml. Pada 12 ml, memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan standar timbal (1 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,1 g dalam 3 ml asam format anhidrat. Tambah 30 ml asam asetat anhidrat. Tambah 0,1 ml naftolbenzen sebagai indikator. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M sampai terbentuk warna hijau. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 13,12 mg C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>.

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Asam amino.

## Kalsium Boroglukonat

*Calcium Borogluconate*

[5743-34-0]

#### Definisi

Kalsium boroglukonat merupakan campuran 83 volume kalsium glukonat (C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>O<sub>12</sub>.C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>O<sub>7</sub>) Ca, H<sub>2</sub>O dan 17 volume asam borat H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>.

Mengandung kalsium (Ca) tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 105,0% dari jumlah yang tertera pada etiket. Mengandung asam borat (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) tidak lebih dari 3 kali dari jumlah kandungan kalsium.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau tidak berwarna.

**Kelarutan.** Sukar larut 1 volume kalsium boroglukonat dalam 5 volume air dingin, larut dalam air mendidih, membentuk larutan jernih atau agak sedikit opalesen.

#### Identifikasi

- Pada 1,0 ml zat uji, tambah air sampai konsentrasi kalsium 0,75% b/v, tambah 0,05 ml besi (III) klorida. Terbentuk warna kuning atau kuning kehijauan.
- Memberikan reaksi garam kalsium.
- Pada 1 ml, tambah 0,15 asam sulfat dan 5 ml metanol dan pijarkan. Terbentuk nyala api berwarna hijau.

**Keasaman.** pH 3,0—4,0. Larutan kalsium 1,5% b/v dalam air bebas karbondioksida.

#### Penetapan kadar

**Kalsium.** Larutkan zat uji setara dengan 45 mg kalsium dalam air sampai batas volume 50 ml. Titrasi dengan dinatrium edetat 0,05 M sampai mendekati titik akhir, tambah 4 ml natrium hidroksida 40% b/v dan 0,01 g campuran kalkon. Lanjutkan titrasi sampai terbentuk warna biru. Setiap ml dinatrium edetat 0,05 M setara dengan 2,004 mg Ca.

**Asam borat.** Larutkan zat uji setara dengan 0,1 g asam borat dengan air sampai batas volume 50 ml, tambah 3 g manitol dan titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 M, gunakan fenolftalein sebagai indikator. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 0,006183 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>.

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya dan suhu tidak lebih dari 20°C.

#### Khasiat

Hipokalsemia.

## Kalsium Boroglukonat Injeksi

#### Definisi

Injeksi kalsium boroglukonat adalah suspensi steril kalsium glukonat dan asam borat dalam air untuk injeksi dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung kalsium tidak kurang dan lebih dari 90,0% dan tidak lebih 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket. Mengandung asam borat tidak lebih dari 2 sampai 3 kali jumlah kandungan kalsium.

#### Identifikasi

- Larutkan 1 ml dengan air sampai konsentrasi kalsium 0,75% b/v, tambah 0,05 ml besi (III) klorida, terbentuk warna kuning atau kuning kehijauan.
- Menunjukkan reaksi garam kalsium.
- Pada 1 ml, tambah 0,15 asam sulfat dan 5 ml metanol dan pijarkan. Terbentuk warna nyala hijau.

**Keasaman.** pH 3,0—4,0. Larutan 1,5% b/v.

#### Penetapan kadar

**Kalsium.** Larutkan sediaan setara dengan 45 mg kalsium dengan air sampai 50 ml. Titrasi dengan dinatrium edetat 0,05 M sampai mendekati titik akhir, tambah 4 ml natrium hidroksida 40% b/v dan 0,01 g campuran kalkon. Lanjutkan titrasi sampai terbentuk warna biru. Setiap ml dinatrium edetat 0,05 M setara dengan 2,004 mg Ca.

**Asam borat.** Larutkan sediaan setara dengan 0,1 gram asam borat dalam 50 ml air, tambah 3 g manitol dan titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 M, gunakan fenolftalein sebagai indikator. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 0,006183 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>.

#### Penyimpanan

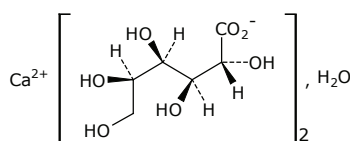
Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

### Kalsium Glukonat

*Calcium Gluconate*



C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>CaO<sub>14</sub> · H<sub>2</sub>O      BM : 448,4      [18016-24-5]

#### Definisi

Kalsium glukonat untuk injeksi mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% kalsium D-glukonat monohidrat.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Larut sebagian dalam air, mudah larut dalam air mendidih.

#### Identifikasi

- Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan 20 mg zat uji dalam 1 ml air, panaskan dalam penangas air pada suhu 60°C.

**Larutan standar.** Larutkan 20 mg standar kalsium glukonat dalam 1 ml air, panaskan dalam penangas air dengan suhu 60°C.

**Fase gerak.** Campur 10 volume amonia pekat, 10 volume etil asetat, 30 volume air dan 50 volume alkohol.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 100°C selama 20 menit. Biarkan dingin dan semprot dengan kalium dikromat (50 g/l dalam asam sulfat 40% b/b). Setelah 5 menit, bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat, warna dan ukuran dengan bercak yang diperoleh dengan larutan standar.

- Pada 20 mg, memberikan reaksi kalsium.

**Larutan S.** Pada 10,0 g, tambah 90 ml air mendidih dan dididihkan selama 10 detik sambil diaduk. Encerkan dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S pada suhu 60°C tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan dengan larutan standar B<sub>7</sub>. Dinginkan sampai suhu 20°C, tidak lebih opalesen dibandingkan dengan larutan standar.

**pH.** 6,4—8,3. Larutkan 1,0 g dalam 20 ml air bebas karbondioksida dan panaskan di atas penangas air.

**Ketidakhurnian organik dan asam borat.** Pindahkan 0,5 g kedalam cawan porselin yang sebelumnya dibilas dengan asam sulfat dalam air es. Tambah 2 ml asam sulfat dingin dan campur. Tidak terbentuk warna kuning atau coklat. Tambah 1 ml kromotrop II B (kromotrop II B 0,005% b/v dalam asam sulfat). Terbentuk warna violet dan tidak menjadi biru. Larutan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan dengan campuran 1 ml larutan kromotrop II B dan 2 ml asam sulfat dingin.

**Oksalat.** Tidak lebih dari 100 ppm, Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 1,0 g zat uji dalam air (air demineralisasi 0,18 Mohm m) sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar.** Larutkan 1,0 g zat uji dalam air (air demineralisasi 0,18 Mohm m), tambah 0,5 ml natrium oksalat (0,152 g/l) dan encerkan dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom (analitik).** Resin penukar ion kuat 30 µm—50 µm, ukuran 25 cm x 4 mm, 2 buah atau yang sesuai.

**Kolom pelindung.** Resin penukar ion, 30 µm—50 µm, ukuran 30 mm x 4 mm atau yang sesuai.

**Kolom (supresor).** mikromembran anion supresor, yang dihubungkan secara serial dengan kolom pelindung dan analitikal; Kolom supresor anion dilengkapi dengan mikro membran yang terpisah dengan fase gerak dari larutan regenerasi supresor.

**Laju alir.** 4 ml/menit.

**Fase gerak.** Larutkan dan encerkan 0,212 g natrium karbonat anhidratn 63 mg ogen karbonat dalam air (demineralisasi) sampai batas volume 1000 ml.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Larutan regenerasi supresor.** Asam sulfat (1,23 g/l dalam air demineralisasi).

**Detektor.** Konduktivitas.

Injek 50 µl larutan standar 5 kali. Uji tidak absah, kecuali jika simpangan baku relatif area puncak oksalat yang diperoleh dengan larutan standar adalah 2,0%.

Injek 50 µl setiap larutan, masing-masing 3 kali. Hitung kadar oksalat (ppm) dengan rumus:

$$\frac{S_T \times 50}{S_R - S_T}$$

$S_T$  = area puncak oksalat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji.

$S_R$  = area puncak oksalat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar.

**Sukrosa dan pengurangan gula.** Larutkan 0,5 g dalam campuran dari 2 ml asam hidroklorida 25% b/v dan 10 ml air. Didihkan selama 5 menit, biarkan dingin, tambah 10 ml natrium karbonat (natrium karbonat anhidrat 10,6% b/v) dan biarkan selama 10 menit. Encerkan dengan air sampai batas volume 25 ml dan saring. Pada 5 ml hasil saringan, tambah 2 ml larutan kupri-tartarat [tembaga (II) sulfat 34,6 g/500 ml dan kalium natrium (+) tartrat dan 50 g natrium hidroksida dalam 500 ml air] dan didihkan selama 1 menit. Biarkan selama 2 menit. Tidak terbentuk endapan merah.

**Klorida.** Pada 10 ml hasil saringan larutan S, tambah 5 ml air. Larutan memenuhi uji batas klorida (50 ppm).

**Fosfat.** Encerkan 1 ml larutan S dengan air sampai batas volume 100 ml. Larutan memenuhi uji batas fosfat (100 ppm).

**Sulfat.** Pada 15 ml hasil saringan larutan S. memenuhi uji batas sulfat (50 ppm). Gunakan campuran 7,5 ml standar sulfat (10 ppm  $\text{SO}_4$ ) dan 7,5 ml air suling.

**Besi.** Tidak lebih dari 5 ppm Fe. Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan:

**Larutan uji.** Pada 2,0 g, tambah 5 ml asam nitrat. Didihkan, uapkan sampai kering. Tambah 1 ml hidrogen peroksida dan uapkan sampai kering. Ulangi penambahan hidrogen peroksida sampai larutan jernih. Pada residu, tambah 2 ml asam nitrat. Encerkan dengan asam hidroklorida encer sampai volume 25,0 ml. Buat larutan kompensasi menggunakan 0,65 g kalsium klorida untuk pengganti zat uji.

**Larutan standar.** Encerkan standar besi (20 ppm Fe) dengan asam hidroklorida encer.

**Magnesium dan logam alkali.** Pada 0,50 g, tambah campuran dari 1,0 ml asam asetat encer dan 10,0 ml air, didihkan dan aduk. Pada larutan, tambah 5,0 ml larutan amonium oksalat (4% b/v) dan biarkan selama 6 jam. Saring dengan penyaring gelas (1,6) ke dalam cawan porselin. Uapkan sampai kering dan pijarkan.

Berat residu tidak lebih dari 2 mg (0,4%).

**Logam berat.** Pada 12 ml larutan S, memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan standar timbal (1 ppm Pb).

**Bakteri endotoksin.** Tidak lebih dari 167 IU/g.

**Kontaminasi mikroba.** Tidak lebih dari 102 koloni/g. Memenuhi uji *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

**Penetapan kadar**

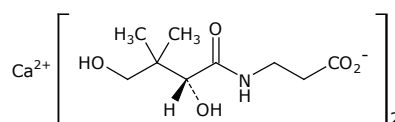
Larutkan 0,35 g dalam 20 ml air panas, dinginkan dan encerkan dengan air sampai batas volume 300 ml. Lakukan titrasi kompleksometri kalsium. Indikator 50 mg asam kalkonekarboksilat. Setiap ml natrium edetat 0,1 M setara dengan 44,84 mg  $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{CaO}_{14}\cdot\text{H}_2\text{O}$ .

**Khasiat**

Hipokalsemia.

## Kalsium Pantotenat

*Calcium Pantothenate*



$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{CaN}_2\text{O}_{10}$

BM : 476,5

[137-08-6]

**Definisi**

Kalsium pantotenat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari kalsium bis[3-[(2R)-2,4-dihidroksi-3,3-dimetil butanoil]amino]propanoat], dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk putih, agak higroskopik.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, agak larut dalam alkohol.

**Identifikasi**

- Memenuhi uji rotasi jenis.
- Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji asam 3-aminopropionat. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- Pada 1 ml larutan S, tambah 1 ml natrium hidroksida encer dan 0,1 tembaga sulfat (12,5% b/v). Terbentuk warna biru.
- Memberikan reaksi kalsium.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air bebas karbondioksida sampai batas volume 50,0.

**Kejernihan larutan.** Larutan S adalah jernih dan tidak berwarna.

**pH.** Larutan S 6,8—8,0.

**Rotasi jenis.** +25,5 sampai +27,5. Gunakan larutan S dan hitung dengan standar terhadap zat kering.

**Asam 3-aminopropionat.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,2 g zat uji dalam air sampai volume 5 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan air sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 20 mg standar kalsium pantotenat dalam air sampai volume 5 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar asam aminopropionat dalam air sampai batas volume 50 ml.

**Fase gerak.** Campur 35 volume air dan 65 volume etanol.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan larutan ninhidrin (larutkan 1 g dalam 50 ml etanol dan 10 ml asam asetat glasial). Panaskan pada suhu 110°C selama 10 menit. Bercak asam 3-aminopropionat pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

**Klorida.** Pada 5 ml larutan S, encerkan dengan air sampai volume 15. Larutan memenuhi uji batas klorida (200 ppm).

**Logam berat.** Pada 12 ml larutan S memenuhi uji batas logam berat (20 ppm). Gunakan standar timbal (1 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 3,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,18 g dalam 50 ml asam asetat anhidrat. Titrasi dengan asam perklorat 0,1M, tentukan titik akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 23,83 mg  $C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$ .

#### Penyimpanan

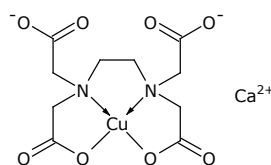
Wadah kedap udara.

#### Khasiat

Komponen vitamin B.

## Kalsium Tembaga Edetat

*Copper Calcium Edetate*



$C_{10}H_{12}CaCuN_2O_8 \cdot 2H_2O$

BM: 427,6

#### Definisi

Kalsium tembaga edetat adalah dihidrat kalsium [etilindiamintetra-asetat(4-)-N,N',O,O'] tembaga (II).

Mengandung tidak kurang dari 9,1% dan tidak lebih dari 9,7% dari kalsium, dan tidak kurang dari 14,4% dan tidak lebih dari 15,3% dari tembaga, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal biru.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, terjadi endapan tetrahidrat secara bertahap; praktis tidak larut dalam etanol (96%).

#### Identifikasi

- Larutkan 0,2 g dalam 5 ml air dan tambah 1 ml asam asetat 6 M, 2 ml larutan kalium iodida encer. Terbentuk warna biru jernih.
- Pijarkan 0,2 g, larutkan residu dengan 3 ml asam hidroklorida 2 M, netralkan dengan amoniak 5 M dan tambah 1 ml asam asetat 6 M, 2 ml larutan kalium iodida encer. Terbentuk endapan putih dan larutan warna coklat.
- Larutkan 0,5 g dalam 10 ml air, asamkan dengan asam hidroklorida 2 M, tambah 25 ml asam merkapto asetat 10% v/v dan saring. Tambah amoniak 5 M dan 5 ml amonium oksalat 2,5% b/v. Terbentuk endapan putih yang larut dalam asam hidroklorida dan sebagian dalam asam asetat 6 M.

**Timbal.** Tidak lebih dari 25 ppm Pb. Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan larutan uji: Larutkan 1,25 g di dalam 10 ml asam hidroklorida, encerkan dengan air sampai batas volume 25 ml. Gunakan standar Pb (100 ppm), jika perlu encerkan dengan air.

**Seng.** Tidak lebih dari 200 ppm Zn. Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan larutan uji: Larutkan 1,0 g dalam 20 ml asam hidroklorida, encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml. Gunakan standar Zn (5 mg/ml), jika perlu encerkan dengan air.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 2,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

#### Penetapan kadar

**Tembaga.** Pijarkan 4 g zat uji dengan suhu 700°C, dinginkan dan panaskan residu dengan 12 ml campuran asam hidroklorida dan air dengan volume yang sama dalam penangas air selama 15 menit. Tambah 10 ml air, saring dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml (larutan A). Pada 25 ml larutan A, tambah 25 ml air dan 10 ml air brom, dididihkan untuk menghilangkan brom, dinginkan dan tambah larutan natrium karbonat encer sampai terbentuk endapan. Tambah 3 g kalium iodida dan 5 ml asam asetat 6 M. Titrasi iodium dengan larutan natrium tiosulfat 0,1 M, menggunakan larutan kanji sebagai indikator sampai terbentuk warna biru. Tambah 2 g kalium tiosianat dan lanjutkan titrasi sampai warna biru hilang. Setiap ml natrium tiosulfat 0,1 M setara 6,354 mg Cu.

**Kalsium.** Pada 5 ml larutan A, tambah 10 ml air dan 10 ml asam merkaptoasetat 10% v/v, biarkan sampai

endapan terkoagulasi, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml, tambah 5 ml natrium hidroksida 5 M. Titrasi dengan dinatrium edetat 0,05 M, menggunakan metil timol biru sebagai indikator sampai terbentuk warna ungu, tambah titran sampai titik-akhir. Setiap ml dinatrium edetat 0,05 M setara dengan 2,004 mg Ca.

### Khasiat

Penanganan kekurangan tembaga.

## Kalsium Tembaga Edetat Injeksi

### Definisi

Kalsium tembaga edetat injeksi adalah suspensi steril dari kalsium tembaga edetat, dengan penambahan bahan pembawa yang sesuai dalam emulsi minyak dalam air.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung tembaga tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

### Karakteristik

**Makroskopik.** Suspensi kental berwarna biru, opaque.

**Mikroskopik.** Jika diencerkan dengan gliserol dan diperiksa secara mikroskopis, terlihat kristal berbentuk kubus berdiameter 10—30  $\mu\text{m}$  dan tidak ada kristal berbentuk lempeng.

### Identifikasi

Pijarkan sediaan setara dengan 1 g tembaga dan larutkan dengan pemanasan dalam 10 ml campuran asam hidroklorida dan air dengan volume yang sama dan saring. Larutan memenuhi uji berikut.

- Netralkan 2 ml larutan dengan amonia 5 M dan tambah 1 ml asam asetat 6 M, 2 ml larutan kalium iodida. Terbentuk endapan putih dan iodin bebas mewarnai supernatan menjadi coklat.
- Pada 5 ml larutan, tambah 25 ml asam merkaptasetat 10% v/v dan saring. Pada hasil saringan, tambah amonia 5 M dan 5 ml amonium oksalat 2,5% b/v. Terbentuk endapan putih yang dapat larut dalam asam hidroklorida dan sebagian dalam asam asetat 6 M.

### Penetapan kadar

Uapkan sediaan setara dengan 0,13 g tembaga sampai kering, pijarkan pada suhu 700°C, dinginkan dan panaskan residu dengan 5 ml campuran asam hidroklorida dan air dengan volume yang sama di atas penangas air selama 15 menit. Tambah 5 ml air, saring dan bilas residu dengan 20 ml air. Campur hasil saringan dan air bilasan, tambah 10 ml air brom, dididihkan untuk menghilangkan brom, dinginkan dan tambah larutan natrium karbonat encer sampai terbentuk endapan. Tambah 3 g kalium iodida dan 5 ml asam asetat 6 M. Titrasi iodin bebas dengan natrium tiosulfat 0,1 M, menggunakan kanji sebagai indikator sampai terbentuk warna biru, tambah 2 g kalium tiosianat dan

lanjutkan titrasi sampai warna biru menghilang. Setiap ml natrium tiosulfat 0,1 M setara dengan 6,354 mg Cu.

### Penyimpanan

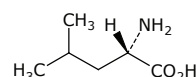
Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Leusin

*Leucine*



$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$

BM : 131,2

[61-90-5]

### Definisi

Leusin mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% dari asam (S)-2-amino-4-metilpentanoat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Agak sukar larut dalam air, sedikit larut dalam alkohol. Larut dalam asam mineral encer dan alkali hidroksida encer.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, C.

Identifikasi ke dua: A, B, D.

- Memenuhi uji rotasi jenis.
- Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam air sampai batas volume 25 ml. Larutan adalah dekstrorotatori.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar isoleusin.
- Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji zat positif ninhidrin. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada posisi, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

**Kejernihan larutan.** Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam asam hidroklorida 1 M sampai volume 10 ml. Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan dengan larutan standar BY<sub>6</sub>.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam asam hidroklorida sampai volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah +14,5 sampai +16,5, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa positif ninhidrin.** Lakukan dengan kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar isoleusin dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5 ml larutan uji (b) dengan air sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar leusin dan 10 mg standar valin dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 25 ml.

**Fase gerak.** Campur 20 volume asam asetat glasial, 20 volume air dan 60 volume butanol.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan, Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan larutan ninhidrin (ninhidrin 0,2% b/v dalam campuran 95 volume butan-1-ol dan 5 volume asam asetat 2M) dan panaskan pada suhu 105°C selama 15 menit. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), merupakan bagian bercak utama, tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan terhadap bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%). Uji tidak absah, kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) menunjukkan 2 bercak yang terpisah.

**Klorida.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas klorida (200 ppm).

**Sulfat.** Larutkan 0,5 g dalam asam hidroklorida encer dan encerkan dalam air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas sulfat (300 ppm).

**Amonium.** Pada 50 mg, memenuhi uji batas amonium (200 ppm). Gunakan 0,1 ml standar amonium (100 ppm NH<sub>4</sub>).

**Besi.** Larutkan 1,0 g dalam 10 asam hidroklorida encer. Ekstraksi 3 kali masing-masing dengan 10 ml metil isobutil keton ( Campur 50 ml 4-metilpentan-2-on hasil penyulingan yang masih segar dengan 0,5 ml asam hidroklorida 7 M, kocok selama 1 menit, biarkan terpisah, buang lapisan bawah, larutan harus segar) kocok selama 3 menit. Campur fase organik, tambah 10 ml air, kocok selama 3 menit. Fase air memenuhi uji batas besi (10 ppm).

**Logam berat.** Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air sampai volume 20 ml. Pada 12 ml, memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan standar timbal (1 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,1 g dalam 3 ml asam format anhidrat. Tambah 30 ml asam asetat anhidrat. Tambah 0,1 ml naftolbenzen sebagai indikator. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M sampai terbentuk warna hijau. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 13,12 mg C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>.

#### Penyimpanan

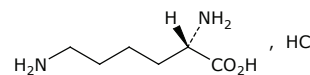
Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Asam amino.

## Lisin Hidroklorida

*Lysine Hydrochloride*



C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> · HCl

BM : 182,7

[657-27-2]

#### Definisi

Lisin hidroklorida mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% dari asam (S)-2,6-diaminoheksanoat hidroklorida, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kristal tidak berwarna.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, sukar larut dalam alkohol.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B, E.

Identifikasi kedua: A, C, D, E.

A. Memenuhi uji rotasi jenis.

B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar lisin hidroklorida. Jika spektrum yang diperoleh berbeda, larutkan zat uji dan standar dalam air. Uapkan sampai kering pada suhu 60°C, dan periksa kembali spektrum dari residu.

C. Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji zat positif ninhidrin. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

D. Pada 0,1 ml larutan S, tambah 2 ml air dan 1 ml asam fosfomolibdat (50 g/l). Terbentuk endapan putih-kekuningan.

E. Pada 0,1 ml larutan S, tambah 2 ml air. Larutan memberikan reaksi klorida.

**Larutan S.** Larutkan 5,0 g dalam air bebas karbon-dioksida sampai batas volume 50 ml.

**Kejerinihan larutan.** Larutan S adalah jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar B<sub>7</sub> atau GY<sub>7</sub>.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam asam hidroklorida sampai volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah +21,0 sampai +22,5, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa positif ninhidrin.** Lakukan dengan kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar lisin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5 ml larutan uji (b) dengan air sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar lisin hidroklorida dan 10 mg standar arginin dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 25 ml.

**Fase gerak.** Campur 30 volume amonia pekat dan 70 volume 2-propanol.

Totolkan 5 µl secara terpisah dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan ninhidrin dan panaskan pada suhu 105°C selama 15 menit. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), merupakan bagian bercak utama, adalah tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) menunjukkan 2 bercak yang terpisah.

**Sulfat.** Encerkan 5 ml larutan S dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas sulfat (300 ppm).

**Amonium.** Pada 50 mg, memenuhi uji batas amonium (200 ppm). Gunakan 0,1 ml standar amonium (100 ppm NH<sub>4</sub>).

**Besi.** Larutkan 1,0 g dalam 10 asam hidroklorida encer. Ekstraksi 3 kali masing-masing dengan 10 ml metil isobutil keton (campur 50 ml 4-metilpentan-2-on hasil penyulingan yang masih segar dengan 0,5 ml asam hidroklorida 7 M, kocok selama 1 menit, biarkan terpisah, buang lapisan bawah, larutan harus segar) kocok selama 3 menit. Campur fase organik, tambah 10 ml air, kocok selama 3 menit. Memenuhi uji batas besi (10 ppm).

**Logam berat.** Pada 12 ml larutan S, memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Keringkan pada suhu 105°C. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,1 g dalam 3 ml asam format anhidrat. Tambah 30 ml asam asetat glasial. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M. Tentukan titik akhir secara potensiometri. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 18,27 mg C<sub>6</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

#### Penyimpanan

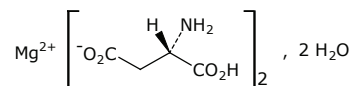
Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Asam amino.

## Magnesium Aspartat Dihidrat

### *Magnesium Aspartate Dihydrate*



C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>MgN<sub>2</sub>O<sub>8</sub>, 2H<sub>2</sub>O      BM : 324,5      [72231-13-1]

#### Definisi

Magnesium aspartat dihidrat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% dari magnesium di[(S)-2-amino-hidrogenobutan-1,4-dioat], dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air.

#### Identifikasi

- Memenuhi uji rotasi jenis.
- Pada kromatogram yang diperoleh dalam uji zat ninhidrin positif. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).
- Pijarkan 15 mg sampai residu putih. Larutkan residu dalam 1 ml asam hidroklorida, netralkan dengan natrium hidroksida encer dan saring. Larutan memberikan reaksi magnesium.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air bebas karbondioksida sampai batas volume 100,0 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak berwarna.

**pH.** Larutan S 6,0—8,0.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam asam hidroklorida (515 g/l) sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis +20,5 sampai +23,0, dihitung dengan standar zat anhidrat.

**Senyawa positif ninhidrin.** Lakukan kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam air sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dalam air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 10 mg standar magnesium aspartat dihidrat dalam air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5 ml larutan uji (b) dalam air sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan 10 mg standar magnesium aspartat dihidrat dan asam glutamat dalam air sampai batas volume 25 ml.



**Fase gerak.** Campur 20 volume asam asetat glasial, 20 volume air dan 60 volume butanol.

Totolkan secara terpisah 5 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan larutan ninhidrin. Panaskan pada suhu 105°C selama 15 menit. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), tidak lebih kuat dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%). Uji tidak absah, jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) menunjukkan dua bercak utama yang terpisah.

**Klorida.** Encerkan 10 ml larutan S dalam air sampai batas volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas klorida (200 ppm).

**Sulfat.** Encerkan 12 ml larutan S dalam air sampai batas volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas sulfat (500 ppm).

**Amonium.** Pada 50 mg, memenuhi uji batas untuk amonium (200 ppm). Gunakan 0,1 ml standar amonium (100 ppm NH<sub>4</sub>).

**Besi.** Larutkan 1,0 g dalam 10 asam hidroklorida encer. Ekstraksi 3 kali masing-masing dengan 10 ml metil isobutil keton (campur 50 ml 4-metilpentan-2-on hasil penyulingan yang masih segar dengan 0,5 ml asam hidroklorida 7M, kocok selama 1 menit, biarkan terpisah, buang lapisan bawah, larutan harus segar) kocok selama 3 menit. Campur fase organik, tambah 10 ml air, kocok selama 3 menit. Memenuhi uji batas besi (10 ppm).

**Logam berat.** Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air sampai volume 20 ml. Pada 12 ml, memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan standar timbal (1 ppm Pb).

**Air.** 10,0%—14,0%. Larutkan 0,1 g zat uji dalam 10 ml formamid pada suhu 50°C, lindungi dari embun. Tambah 10 ml metanol anhidrat dan diamkan sampai dingin.

#### Penetapan kadar

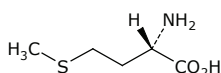
Larutkan 0,26 g dalam 10 ml air dan lakukan titrasi kompleksometri magnesium. Setiap ml natrium edetat 0,1 M setara dengan 28,85 mg C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>MgN<sub>2</sub>O<sub>8</sub>.

#### Ketidakmurnian

Asam aspartat.

### Metionin

*Methionine*



C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>S

BM : 149,2

[63-68-3]

#### Definisi

Metionin mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% dari asam (2S)-2-amino-4-(metilsulfanul)butanoat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kristal tidak berwarna.

**Kelarutan.** Larut dalam air, sukar larut dalam alkohol.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: A, C, D.

A. Memenuhi uji rotasi jenis.

B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar metionin.

C. Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji zat positif ninhidrin. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

D. Larutkan 0,1 g zat uji 0,1 g glisin dalam 4,5 ml natrium hidroksida encer. Tambah 1 ml natrium nitroprusida (25 g/l). Panaskan dengan suhu 40°C selama 10 menit. Biarkan dingin dan tambah 2 ml campuran 1 volume asam fosfat dan 9 volume asam hidroklorida. Terbentuk warna merah.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air bebas karbondioksida sampai batas volume 100 ml.

**Kejerinihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak berwarna.

**pH.** Larutan S 5,5—6,5.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam asam hidroklorida sampai batas volume 50,0 ml. Rotasi jenis adalah +22,5 sampai +24,0, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa positif ninhidrin.** Lakukan dengan kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar metionin dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5 ml larutan uji (b) dengan air sampai volume 20.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar metionin dan 10 mg standar serin dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 25 ml.

**Fase gerak.** Campur 20 volume asam asetat glasial, 20 volume air dan 60 volume butanol.

Totolkan secara terpisah 5 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan ninhidrin dan panaskan pada suhu 105°C selama 15 menit. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), merupakan bagian bercak utama, adalah tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%). Uji tidak absah, kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar

(c) menunjukkan 2 bercak yang terpisah.

**Klorida.** Pada 10 ml larutan S tambah 25 ml air, 5 ml asam nitrat encer dan 10 ml perak nitrat. Biarkan dan lindungi dari cahaya selama 5 menit. Opalesensi dalam larutan tidak lebih kuat dibandingkan dengan larutan standar yang dipersiapkan dengan cara yang sama menggunakan 10 ml standar klorida (5 ppm Cl) (200 ppm).

**Sulfat.** Larutkan 0,5 g dalam 3 ml asam hidroklorida dan encerkan dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas sulfat (300 ppm).

**Amonium.** Pada 0,1 g memenuhi uji batas amonium (200 ppm). Gunakan 0,2 ml standar amonium (100 ppm NH<sub>4</sub>).

**Besi.** Larutkan 1,0 g dalam 10 ml asam hidroklorida encer. Ekstraksi 3 kali masing-masing dengan 10 ml metil isobutil keton (campur 50 ml 4-metilpentan-2-on hasil penyulingan yang masih segar dengan 0,5 ml asam hidroklorida 7 M, kocok selama 1 menit, biarkan terpisah, buang lapisan bawah. Kocok selama 3 menit. Campur fase organik, tambah 10 ml air, kocok selama 3 menit. Fase air memenuhi uji batas besi (10 ppm). Larutan harus segar.

**Logam berat.** Pada 2,0 g, memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan 2 ml larutan standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,1 g dalam 3 ml asam format anhidrat. Tambah 30 ml asam asetat glasial. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M. Tentukan titik akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 14,92 mg C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>S.

#### Penyimpanan

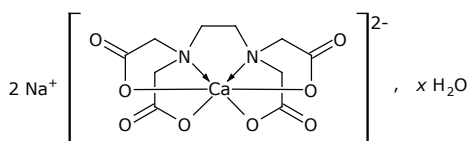
Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Asam amino.

## Natrium Kalsium Edetat

*Sodium Calcium Edetate*



C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>CaN<sub>2</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>8</sub> · xH<sub>2</sub>O      BM : 374,3      [62-33-9]

#### Definisi

Natrium kalsium edetat adalah dinatrium[(etilen-dinitrilo)tetraasetato]kalsiat (2-).

Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0%, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau hampir putih, higroskopik.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, praktis tidak larut dalam etanol (96%).

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, C, D.

Identifikasi kedua: B, C, D.

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar natrium kalsium edetat.

B. Larutkan 2 g dalam 10 ml air, tambah 6 ml larutan timbal nitrat, kocok dan tambah 3 ml kalium iodida. Tidak terbentuk endapan kuning. Tambah amonia encer dan 3 ml amonium oksalat sampai basa. Terbentuk endapan putih.

C. Pijarkan, residu memberikan reaksi kalsium.

D. Residu yang diperoleh dari uji identifikasi C memberikan reaksi natrium.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 5,0 g dalam air sampai batas volume 100 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak berwarna.

**pH.** 6,5—8,0. Larutkan dan encerkan 5,0 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 25 ml.

**Ketidakhurnian A.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pelarut.** Larutkan 10,0 g besi (III) sulfat pentahidrat dalam 20 ml asam sulfat 0,5 M dan tambah 780 ml air. Atur pH 2,0 dengan natrium hidroksida 1 M dan encerkan dengan air sampai batas 1000 ml.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam pelarut sampai batas volume 25 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 40 mg asam nitrilotriasetat dalam pelarut sampai batas volume 100 ml. Pada 1,0 ml larutan, tambah 0,1 ml larutan uji dan encerkan dengan pelarut sampai batas volume 100,0 ml.

**Kolom.** Karbon grafitis 5 µm, ukuran 10 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Larutkan 50,0 mg besi (III) sulfat pentahidrat dalam 50 ml asam sulfat 0,5 M dan tambah 780 ml air. Atur pH 1,5 dengan asam sulfat 0,5 M atau natrium hidroksida 1 M, tambah 20 ml etilen glikol dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 273 nm.

**Injek.** 20 µl.

**Waktu uji.** 4 kali waktu tambat besi kompleks dari ketidakhurnian A.

**Waktu tambat.** Ketidakhurnian A sekitar 5 menit,

besi kompleks dari asam edetat sekitar 10 menit.

**Kesesuaian sistem larutan standar.** Resolusi tidak kurang dari 7 antara puncak besi kompleks dari ketidakh murnian A dan besi kompleks dari asam edetat; Puncak gangguan tidak kurang dari 50 puncak ketidakh murnian A.

#### Batas

**Ketidakh murnian A.** Tidak lebih dari area puncak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (0,1%).

**Dinatrium edetat.** Tidak lebih dari 1,0%. Larutkan 5,0 g dalam 250 ml air. Tambah 10 ml dapar amonium klorida pH 10,0 dan 50 mg hitam mordan. Tidak lebih dari 1,5 ml magnesium klorida 0,1 M yang diperlukan untuk merubah warna indikator sampai violet.

**Klorida.** Tidak lebih dari 0,1%. Pada 2 ml larutan S, tambah 30 ml asam nitrat encer, diamkan selama 30 menit dan saring. Encerkan 2,5 ml hasil saringan dengan air sampai volume 15 ml.

**Besi.** Tidak lebih dari 80 ppm. Encerkan 2,5 ml larutan S dengan air sampai volume 10 ml. Tambah 0,25 g kalsium klorida pada larutan uji dan standar sebelum penambahan asam tioglikolat.

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Pada 1,0 g memenuhi uji batas logam berat. Gunakan 2 ml standar timbal (10 ppm Pb).

**Air.** 5,0%—13,0%. Gunakan 0,1 g.

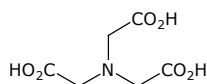
#### Penetapan kadar

Larutkan dan encerkan 0,3 g dalam air sampai batas volume 300 ml. Tambah 2 g heksametilentetramin dan 2 ml asam hidroklorida encer. Titrasi dengan timbal nitrat 0,1 M, gunakan 50 mg silenol jingga sebagai indikator. Setiap ml timbal nitrat 0,1 M setara dengan 37,43 mg dari  $C_{10}H_{12}CaN_2Na_2O_8$ .

#### Penyimpanan

Wadah kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

#### Ketidakh murnian



Asam nitrilotriasetat.

#### Khasiat

Untuk keracunan timbal.

## Natrium Kalsium Edetat Infus

#### Definisi

Natrium kalsium edetat infus adalah larutan steril dari natrium kalsium edetat dalam pembawa yang sesuai.

Infus intravena memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan parenteral dan persyaratan berikut.

Mengandung natrium kalsium edetat anhidrat  $C_{10}H_{12}CaN_2Na_2O_8$  tidak kurang dari 22,5% dan tidak lebih dari 27,5% b/v.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Larutan jernih tidak berwarna.

#### Identifikasi

- Encerkan 2,5 ml sediaan dengan 7,5 ml air, tambah amonia 5 M sampai basa dan 5 ml amonium oksalat 2,5% b/v. Endapan yang terbentuk tidak lebih dari satu titik.
- Pada 10 ml, tambah 2 ml timbal (II) nitrat 10% b/v, kocok dan tambah 5 ml kalium iodida encer; tidak terbentuk endapan kuning. tambah amonia 5 M sampai basa dan 5 ml amonium oksalat 2,5% b/v. Terbentuk endapan putih.
- Uapkan sampai kering dan pijarkan. Residu memberikan reaksi natrium dan kalsium.

**Keasaman atau kebasaaan.** pH, 6,5—8,0.

**Pirogen.** Memenuhi uji pirogen. Gunakan 2 ml/kg berat kelinci.

#### Penetapan kadar

Pada 2,5 ml sediaan, tambah 90 ml air, 7 g dari heksamin dan 5 ml asam hidroklorida 2 M. Titrasi dengan perak nitrat 0,05 M menggunakan silenol jingga sebagai indikator. Setiap ml perak nitrat 0,05 M setara dengan 18,71 mg  $C_{10}H_{12}CaN_2Na_2O_8$ .

#### Penyimpanan

Natrium kalsium edetat pekat harus disimpan dalam kemasan gelas bebas timbal.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Natrium Klorida

*Sodium Chloride*

NaCl

BM : 58,44

[7647-14-5]

#### Definisi

Natrium klorida mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5% dari NaCl, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih berkilau.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, praktis tidak larut dalam etanol.

#### Identifikasi

- Memberikan reaksi klorida.
- Memberikan reaksi natrium.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 20,0 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 100,0 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak berwarna.

**Keasaman-kebasaan.** Pada 20 ml larutan S, tambah 0,1 ml larutan bromotimol biru. Tidak lebih dari 0,5 ml asam hidroklorida 0,01 M atau natrium hidroksida 0,01 M yang diperlukan untuk merubah warna indikator.

**Bromida.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Pada 0,5 ml larutan S, tambah 4,0 ml air, 2,0 ml larutan merah fenol dan 1,0 ml kloramin (0,1 g/l) dan aduk. Setelah 2 menit, tambah 0,15 ml natrium tiosulfat 0,1 M, aduk dan encerkan dengan air sampai volume 10,0 ml. Ukur serapan pada panjang gelombang 590 nm, gunakan air sebagai larutan kompensasi, tidak lebih besar dari standar (gunakan 5,0 ml dari kalium bromida 3,0 mg/l) dengan cara yang sama (100 ppm).

**Besi (II) sianida.** Larutkan 2,0 g dalam 6 ml air. Tambah 0,5 ml campuran 5 ml besi (III) amonium sulfat (10 g/l) dalam asam sulfat (2,5 g/l) dan 95 ml besi sulfat (10 g/l). Tidak terbentuk warna biru dalam waktu 10 menit.

**Iodium.** Larutkan 5 g dalam campuran 0,15 ml natrium nitrit, 2 ml asam sulfat 0,5 M, 25 ml larutan kanji bebas iod dan 25 ml air. Setelah 5 menit, tidak terbentuk warna biru.

**Nitrit.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Pada 10 ml larutan S, tambah 10 ml air. Ukur serapan pada panjang gelombang 354 nm. Serapan tidak lebih besar dari 0,01.

**Fosfat.** Encerkan 2 ml larutan S dengan air sampai batas volume 100 ml. Larutan memenuhi uji batas fosfat (25 ppm).

**Sulfat.** Encerkan 7,5 ml larutan S dengan air suling sampai volume 30 ml. Pada 15 ml larutan memenuhi uji batas sulfat (200 ppm).

**Aluminium.** Larutkan 20,0 g dalam 100 ml air dan tambah 10 ml dapar asetat pH 6,0. Larutan memenuhi uji batas aluminium (0,2 ppm). Gunakan larutan standar, campuran 2 ml larutan aluminium (2 ppm Al), 10 ml dapar asetat pH 6,0 dan 98 ml air. Siapkan blanko campuran 10 ml dapar asetat pH 6,0 dan 100 ml air.

**Arsen.** Pada 5 ml larutan S memenuhi uji batas arsen (1 ppm).

**Barium.** Pada 5 ml larutan S, tambah 5 ml air suling dan 2 ml asam sulfat encer. Setelah 2 jam, opalesen lain dalam larutan tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan campuran 5 ml larutan S dan 7 ml air suling.

**Besi.** Pada 10 ml larutan S memenuhi uji batas besi (2 ppm). Gunakan campuran 4 ml standar besi (1 ppm Fe) dan 6 ml air.

**Magnesium dan kalsium.** Pada 10,0 g memenuhi uji batas magnesium dan kalsium. Gunakan 150 mg hitam mordan. Jumlah natrium edetat 0,01 M yang digunakan tidak lebih 2,5 ml (100 ppm, dihitung sebagai Ca).

**Kalium.** Tidak lebih dari 500 ppm K. Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 1,0 g zat uji dalam air sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar.** Larutkan 1,144 kalium klorida (keringkan pada suhu 105°C selama 3 jam) dalam air sampai batas volume 1000,0 ml (600 µg/ml kalium). Ukur intensitas emisi pada panjang gelombang 766,5 nm.

**Logam berat.** Pada 12 ml larutan S memenuhi uji batas logam berat (5 ppm). Gunakan standar timbal (1 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Keringkan pada suhu 105°C. Gunakan 1 g.

**Bakteri endotoksin.** Tidak lebih dari 5 IU/g.

### Penetapan kadar

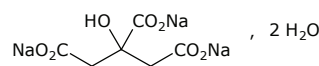
Larutkan dan encerkan 50,0 mg dalam air sampai batas volume 50 ml. Titrasi dengan perak nitrat 0,1 M. Tentukan titik akhir secara potensiometrik. Setiap ml perak nitrat 0,1 M setara dengan 5,844 mg dari NaCl.

### Khasiat

Pengobatan kekurangan elektrolit.

## Natrium Sitrat

*Sodium Citrate*



$C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$

BM : 294,1

[6132-04-3]

### Definisi

Natrium sitrat mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari trinatrium 2-hidroksipropion-1,2,3-trikarboksilat, dihitung dengan standar terhadap zat anhidrat.

### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk atau kristal putih, sedikit delikuesen.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, praktis tidak larut dalam alkohol.

### Identifikasi

A. Pada 1 ml larutan S, tambah 4 ml air. Larutan memberikan reaksi sitrat.

B. Pada 1 ml larutan S memberikan reaksi natrium.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 10,0 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 100 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak berwarna.

**Keasaman-kebasaan.** Pada 10 ml larutan S, tambah 0,1 fenolftalein. Tidak lebih dari 0,2 ml asam hidroklorida 0,1 M atau natrium hidroksida 0,1 M yang diperlukan untuk merubah warna indikator.

**Zat karbon.** Pada 0,2 g zat uji, tambah 10 ml asam sulfat dan panaskan dalam penangas air pada suhu 90°C selama 60 menit. Dinginkan. Larutan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar  $Y_2$  atau  $GY_2$ .

**Klorida.** Encerkan 10 ml larutan S dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas klorida (50 ppm).

**Oksalat.** Larutkan 0,5 g dalam 4 ml air, tambah 3 ml asam hidroklorida dan 1 g serbuk seng dan panaskan di atas penangas air selama 1 menit. Diamkan selama 2 menit, pindahkan ke dalam tabung reaksi yang mengandung 0,25 ml fenilhidrazin hidroklorida (10 g/l) dan didihkan. Dinginkan, pindahkan ke dalam tabung sentrifus dan tambah asam hidroklorida dengan volume yang sama dan 0,25 ml kalium besi (III) sianida. Kocok dan diamkan selama 30 menit. Warna merah muda dalam larutan tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan standar yang dibuat dengan cara yang sama menggunakan 4 ml asam oksalat (50 mg/l) (300 ppm).

**Sulfat.** Pada 10 ml larutan S, tambah 2 ml asam hidroklorida 25% b/v dan encerkan dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas sulfat (150 ppm).

**Logam berat.** Pada 12 ml larutan S, memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan standar timbal (1 ppm Pb).

**Air.** 11,0%—13,0%. Gunakan 0,3 g.

**Pirogen.** Memenuhi uji batas pirogen, bila digunakan untuk sediaan parenteral.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,15 g dalam 20 ml asam asetat anhidrat. Panaskan pada suhu 50°C, dinginkan. Gunakan 0,25 ml larutan naftolbenzen sebagai indikator, titrasi dengan asam perklorat 0,1 M sampai terbentuk warna hijau. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 8,602 mg dari  $C_6H_5Na_3O_7$ .

#### Penyimpanan

Kedap udara.

#### Khasiat

Zat pembasa sistemik.

### Natrium Klorida dan Natrium Sitrat Infus Intravena

#### Definisi

Natrium klorida dan natrium sitrat infus intravena adalah larutan steril natrium klorida dan natrium sitrat dalam air untuk injeksi atau dalam pembawa yang sesuai.

Infus memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan infus dan persyaratan berikut:

Mengandung natrium klorida dan natrium sitrat tidak kurang dari 4,7% b/v dan tidak lebih dari 5,25% b/v.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Larutan jernih, tidak berwarna.

#### Identifikasi

A. Tambah larutan raksa (II) sulfat dan saring. Panaskan hasil saringan sampai mendidih dan tambah 0,15 ml larutan kalium permanganat;

larutan tidak berwarna, dan terbentuk endapan putih.

B. Menunjukkan reaksi garam natrium.

**Keasaman-kebasaan.** pH 6,0—8,0.

#### Penetapan kadar

**Natrium klorida.** Sediaan setara dengan 0,2 g natrium klorida, tambah 15 ml asam nitrat 2 M, 5 ml dibutil ftalat, dan 50 ml perak nitrat 0,1 M dan kocok selama beberapa menit. Tambah 5 ml larutan amonium (III) sulfat. Titrasi dengan amonium tiosianat 0,1 M sampai terbentuk warna coklat kemerahan yang tetap selama 5 menit. Setiap ml perak nitrat 0,1 M setara dengan 5,849 mg NaCl.

**Natrium sitrat.** Uapkan sediaan setara dengan 0,25 g natrium sitrat sampai kering dan panaskan residu sampai terkarbonisasi, dinginkan, didihkan residu dengan 50 ml asam hidroklorida 0,1 M dan saring. Bilas hasil saringan dengan air, dinginkan, campur hasil saringan dan cairan pembilas. Titrasi dengan natrium hidroksida 0,1 M, gunakan metil jingga sebagai indikator. Setiap ml natrium hidroksida 0,1 M setara dengan 9,804 mg  $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ .

#### Penyimpanan

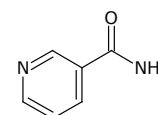
Dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Nikotinamid

*Nicotinamide*



$C_6H_6N_2O$

BM : 122,1

[98-92-0]

#### Definisi

Nikotinamid mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari piridin-3-karboksamid, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau tidak berwarna.

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

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: A, C, D.

A. Suhu lebur 128°—131°C.

B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar nikotinamid.

C. Didihkan 0,1 g dengan 1 ml larutan natrium hidroksida encer. Terbentuk bau amoniak.

D. Encerkan 2 ml larutan S dengan air sampai batas volume 100 ml. Pada 2 ml larutan, tambah 2 ml

larutan sianogen bromida dan 3 ml anilin (25 g/l) dan kocok. Terbentuk warna kuning.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 50 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar BY7.

**pH.** Larutan S 6,0—7,5.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub>.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,4 g zat uji dalam campuran alkohol dan air dengan volume yang sama sampai volume 5,0 ml.

**Larutan standar.** Encerkan 0,5 ml larutan uji dalam campuran alkohol dan air dengan volume yang sama sampai batas volume 200 ml.

**Fase gerak.** Campuran 4 volume air, 45 volume etanol dan 48 volume kloroform.

Totolkan secara terpisah 5 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa pada cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, selain dari bercak utama, tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (0,25%).

**Logam berat.** Encerkan 12 ml larutan S dengan air sampai volume 18 ml. Pada 12 ml larutan S memenuhi uji batas untuk logam berat (30 ppm). Gunakan standar timbal (1 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C secara vakum sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

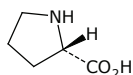
Larutkan 0,25 g dalam 20 ml asam asetat glasial, jika diperlukan panaskan sedikit, dan tambah 5 ml asetat anhidrat. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M, gunakan larutan kristal violet sebagai indikator sampai warna biru kehijauan. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 12,21 mg C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O.

#### Khasiat

Komponen vitamin B.

### Prolin

*Proline*



C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>

BM : 115,1

[147-85-3]

#### Definisi

Prolin mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% dari asam (S)-pirolidin-2-karboksilat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kristal tidak berwarna.

**Kelarutan.** Sangat larut dalam air, mudah larut dalam alkohol.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: A, C.

A. Memenuhi uji rotasi jenis.

B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar prolin.

C. Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji zat positif ninhidrin. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air bebas karbondioksida sampai batas volume 50 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak berwarna.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam air sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah -84,0 sampai -86,5, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa positif ninhidrin.** Lakukan dengan kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar lisin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5 ml larutan uji (b) dengan air sampai volume 20 ml

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar prolin dan 10 mg batas treonin dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 25 ml.

**Fase gerak.** Campur 20 volume asam asetat glasial, 20 volume air dan 60 volume butanol.

Totolkan secara terpisah 5 µl dari setiap larutan tion. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan ninhidrin dan panaskan pada suhu 105°C selama 15 menit. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), merupakan bagian bercak utama, adalah tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%). Uji tidak absah, kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) menunjukkan 2 bercak yang terpisah.

**Klorida.** Encerkan 5 ml larutan S dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas klorida (200 ppm).

**Sulfat.** Encerkan 5 ml larutan S dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas sulfat (300 ppm).

**Amonium.** Pada 50 mg, memenuhi uji batas amonium (200 ppm). Gunakan 0,1 ml larutan standar amonium (100 ppm NH<sub>4</sub>).

**Besi.** Larutkan 1,0 g dalam 10 asam hidroklorida encer. Ekstraksi 3 kali masing-masing dengan 10 ml metil isobutil keton (campur 50 ml 4-metilpentan-2-on hasil penyulingan yang masih segar dengan 0,5 ml asam hidroklorida 7M, kocok selama 1 menit, biarkan terpisah, buang lapisan bawah, larutan harus segar) kocok selama 3 menit. Campur fase organik, tambah 10 ml air, kocok selama 3 menit. Memenuhi uji batas besi (10 ppm).

**Logam berat.** Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air sampai volume 20 ml. Pada 12 ml, memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan standar timbal (1 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Keringkan pada suhu 105°C. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,1 g dalam 3 ml asam format anhidrat. Tambah 30 ml asam asetat glasial. Titrasi dengan asam perklorat 0,1M. Tentukan titik akhir secara potensiometri. Setiap ml asam perklorat 0,1M setara dengan 11,51 mg C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>.

#### Penyimpanan

Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Asam amino.

## Kalium Selenat

*Potassium Selenate*

K<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>                      BM : 221,2                      [7790-59-2]

#### Definisi

Kalium selenat mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 100,5% dari K<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal tidak berwarna atau putih.

**Kelarutan.** Mudah larut di dalam air.

#### Identifikasi

- Menunjukkan reaksi garam kalium.
- Pada larutan 0,1 g dalam 3 ml air, tambah 1 ml asam hidroklorida, 0,5 ml hidrazin hidrat dan dididihkan. Terbentuk endapan merah.
- Asamkan 1 ml larutan 1% dengan asam hidroklorida 2M dan tambah 0,15 ml larutan barium klorida.

Bilas endapan dengan air dan dididihkan dengan asam hidroklorida, memberikan reaksi klorida.

**Klorida.** Pada 0,3 g memenuhi uji batas klorida (170 ppm).

**Selenit.** Tidak lebih dari 0,1%, dihitung sebagai SeO<sub>3</sub>. Larutkan 2,0 g dalam 50 ml air, tambah 50 ml asam sulfat 9M, 12 g dinatrium hidrogen fosfat dan 10 ml kalium permanganat 0,02M dan biarkan selama 20 menit. Titrasi kelebihan kalium permanganat dengan amonium besi (II) sulfat 0,1M. Setiap ml kalium permanganat 0,02M setara dengan 6,348 mg SeO<sub>3</sub>.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,1%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 1 g dalam 60 ml air, tambah 15 ml asam hidroklorida dan 5 ml hidrazin hidrat 50% b/v, dididihkan dan panaskan di atas penangas air selama 3 jam. Biarkan semalam, bilas endapan dengan air panas sampai bebas ion klorida, bilas dengan etanol absolut dan keringkan pada suhu 105°C. Setiap mg selenium setara dengan 2,801 mg K<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>.

#### Khasiat

Digunakan dengan α-tokoferil asetat, untuk pengobatan muskular distrofi.

## Selenit Natrium

*Sodium Selenite*

Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>                      BM : 172,9                      [10102-18-8]

#### Definisi

Selenit natrium mengandung tidak kurang dari 44,0% dan tidak lebih dari 46,0% dari Se, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk putih atau merah keabuan.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, praktis tidak larut dalam etanol (96%) dan eter.

#### Identifikasi

- Larutkan 50 mg dalam 5 ml asam hidroklorida 7M, tambahkan 2 ml natrium tiosulfat 0,1M dan panaskan sampai mendidih. Terbentuk endapan jingga kemerahan.
- Pada 1 ml larutan S menghasilkan reaksi dari garam natrium.

**Larutan S.** Larutkan 2,0 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 100 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S tidak lebih opalesen dibandingkan standar.

**Kebasaan.** Pada 50 ml larutan S, tambah 0,2 ml larutan timolftalein. Tidak lebih dari 0,25 ml asam hidroklorida 1M diperlukan untuk merubah warna indikator.

**Klorida.** Encerkan 2,5 larutan S sampai 15 ml dengan air. Larutan memenuhi uji batas untuk klorida (0,1%).

**Sulfat.** Encerkan 3,75 ml larutan S dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas untuk sulfat (0,2%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1 g.

#### Penetapan kadar

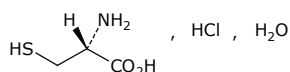
Larutkan 1 g dalam 100 ml air, tambah 30 ml asam hidroklorida dan didihkan. Tambah 100 ml asam sulfat (96% b/b), aduk, didihkan, sumbat dengan kaca arloji, dan panaskan di atas penangas air selama 2 jam. Tambah 10 ml asam sulfat (96% b/b), dinginkan. Saring melalui gelas saring (No. 16) dan bilas endapan dengan air sampai bilasan bebas klorida. Keringkan kertas saring pada suhu 105°C, timbang sampai bobot tetap.

#### Khasiat

Penanganan kekurangan selenium.

## Sistein Hidroklorida

### *Cysteine Hydrochloride*



$C_3H_7NO_2S$ , HCl,  $H_2O$       BM: 175,6      [7048-04-6]

#### Definisi

Sistein hidroklorida monohidrat mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% dari asam (2R)-2-amino-3-sulfanilpropanoat hidroklorida, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kristal tidak berwarna.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, sukar larut dalam alkohol.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B, E.

Identifikasi kedua: A, C, D, E.

- Memenuhi uji rotasi jenis.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sistein hidroklorida.
- Periksa kromatogram yang diperoleh dalam zat positif ninhidrin. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (b).
- Larutkan 5 mg dalam 1 ml natrium hidroksida encer. Tambah 1 ml natrium nitroprusida (30 g/l). Terbentuk warna merah kecoklatan dan jingga. Tambah 1 ml asam hidroklorida. Terbentuk warna hijau.

E. Memberikan reaksi klorida.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air sampai batas volume 50 ml.

**Kejernihan larutan.** Encerkan 10 ml larutan S dengan air sampai volume 20 ml. Larutan adalah jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar BY<sub>6</sub>.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam asam hidroklorida sampai volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah +5,5 sampai +7,0, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa positif ninhidrin.** Lakukan dengan kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,2 g zat uji dalam air sampai volume 10 ml. Pada 5 ml tambah 5 ml N-etilmaleimida (40 g/l dalam alkohol). Biarkan selama 5 menit.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 0,2 g standar sistein hidroklorida dalam air sampai volume 10 ml. Pada 5 ml, tambah 5 ml N-etilmaleimid (40 g/l dalam alkohol). Biarkan selama 5 menit.

**Larutan standar (b).** Encerkan 2 ml larutan standar (a) sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 5 ml larutan uji (b) dengan air sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan 10 mg standar tirosin dalam 10 ml larutan standar (a) dan encerkan dengan air sampai volume 25 ml.

**Fase gerak.** Campur 20 volume asam asetat glasial, 20 volume air dan 60 volume butanol.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan pada suhu 80°C selama 30 menit. Semprot dengan larutan ninhidrin (ninhidrin 0,2% b/v dalam campuran 95 volume butan-1-ol dan 5 volume asam asetat 2M) dan panaskan pada suhu 105°C selama 15 menit. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), merupakan bagian bercak utama, adalah tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (c) (0,5%). Uji tidak absah, kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) menunjukkan 2 bercak yang terpisah.

**Sulfat.** Encerkan 10 ml larutan S dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji bats sulfat (300 ppm).

**Amonium.** Pada 50 mg, memenuhi uji batas amonium (200 ppm). Gunakan 0,1 ml standar amonium (100 ppm  $NH_4$ ).

**Besi.** Larutkan 1,0 g dalam 10 asam hidroklorida encer. Ekstraksi 3 kali masing-masing dengan 10 ml metil isobutil keton (Campur 50 ml 4-metilpentan-2-on hasil



penyulingan yang masih segar dengan 0,5 ml asam hidroklorida 7 M, kocok selama 1 menit, biarkan terpisah, buang lapisan bawah, larutan harus segar) kocok selama 3 menit. Campur fase organik, tambah 10 ml air, kocok selama 3 menit. Memenuhi uji batas besi (10 ppm).

**Logam berat.** Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air sampai volume 20 ml. Pada 12 ml, memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan standar timbal (1 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** 8,0%—12,0%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C dan tekanan tidak lebih dari 0,7 kPa sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,3 g zat uji dan 4 g kalium iodida dalam 20 ml air. Dinginkan dalam air es dan tambah 3 ml asam hidroklorida dan 25,0 ml iodium 0,05 M. Sumbat dan biarkan dalam gelap selama 20 menit. Titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 M menggunakan kanji sebagai indikator. Lakukan titrasi blanko. Setiap ml iodium 0,05 M setara dengan 15,76 mg  $C_9H_9NO_3$ .

#### Penyimpanan

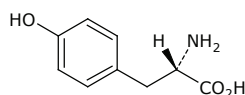
Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Asam amino.

### Tirosin

*Tyrosine*



$C_9H_9NO_3$

BM : 181,2

[60-18-4]

#### Definisi

Tirosin mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari asam (S)-2-amino-3-(4-hidroksifenil)propanoat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kristal tidak berwarna.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, praktis tidak larut dalam alkohol. Larut dalam asam mineral dan alkali hidrokksida encer.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: A, C, D, E.

A. Memenuhi uji rotasi jenis.

B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar tirosin.

C. Periksa kromatogram yang diperoleh dalam zat

positif ninhidrin. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

D. Pada 50 mg tambah 1 ml asam nitrat encer. Terbentuk warna merah tua selama 15 menit.

E. Larutkan 30 mg dalam 2 ml natrium hidrokksida. Tambah 3 ml larutan segar dari campuran dengan volume yang sama natrium nitrit (100 g/l) asam sulfanilat (0,5 g dalam campuran 6 ml asam hidroklorida dan 94 ml air). Terbentuk warna jingga-merah.

**Kejernihan larutan.** Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam asam hidroklorida encer sampai volume 20 ml. Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibanding dengan larutan standar Y<sub>7</sub>.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 1,25 g dalam campuran asam hidroklorida encer dan air dengan volume yang sama sampai volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah -11,0 sampai -12,3, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa positif ninhidrin.** Lakukan dengan kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam amonia encer sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar tirosin dalam amonia encer sampai volume 10 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5 ml larutan uji (b) dengan air sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan 10 mg standar tirosin dan 10 mg standar fenilalanin dalam 1 ml amonia encer dan encerkan dengan air sampai batas volume 25 ml.

**Fase gerak.** Campur 30 volume amonia pekat dan 70 volume propanol.

Totolkan secara terpisah 5 µl dari setiap larutan tion. Angkat lempeng dan biarkan kering diudara. Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan tion. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan ninhidrin dan panaskan pada suhu 105°C selama 15 menit. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), merupakan bagian bercak utama, adalah tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%). Uji tidak absah, kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) menunjukkan 2 bercak yang terpisah.

**Klorida.** Larutkan 0,25 g dalam 3 ml asam nitrat encer dan encerkan dengan air sampai volume 15. Memenuhi uji batas klorida (200 ppm).

**Sulfat.** Pada 0,5 g dalam 5 ml asam hidroklorida encer dan encerkan dengan air sampai volume 15 ml, panaskan. Larutan memenuhi uji batas sulfat (300 ppm).

**Amonium.** Pada 50 mg, memenuhi uji batas amonium (200 ppm). Gunakan 0,1 ml larutan standar amonium (100 ppm NH<sub>4</sub>).

**Besi.** Larutkan 1,0 g dalam 10 asam hidroklorida encer. Ekstraksi 3 kali masing-masing dengan 10 ml metil isobutil keton (campur 50 ml 4-metilpentan-2-on hasil penyulingan yang masih segar dengan 0,5 ml asam hidroklorida 7 M, kocok selama 1 menit, biarkan terpisah, buang lapisan bawah, larutan harus segar) kocok selama 3 menit. Campur fase organik, tambah 10 ml air, kocok selama 3 menit. Memenuhi uji batas besi (10 ppm).

**Logam berat.** Pada 2,0 g, memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,1 g dalam 3 ml asam format anhidrat. Tambah 30 ml asam asetat glasial. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M. Tentukan titik akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 18,12 mg C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>.

#### Penyimpanan

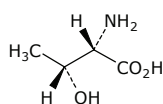
Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Asam amino.

### Treonin

Threonine



C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>

BM : 119,1

[72-19-5]

#### Definisi

Treonin mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dari asam (2S,3R)-2-amino-3-hidroxybutanoat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kristal berwarna.

**Kelarutan.** Larut dalam air, praktis tidak larut dalam alkohol.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: A, C, D.

A. Memenuhi uji rotasi jenis.

B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar treonin.

C. Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji zat positif ninhidrin. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

D. Campur 1 ml zat uji (2 g/l) dengan 1 ml natrium periodat (20 g/l). Tambah 0,2 ml piperidin dan 0,1 ml natrium nitroprusida (25 g/l). Terbentuk warna biru yang berubah menjadi kuning setelah beberapa menit.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air bebas karbondioksida sampai batas volume 100,0ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak berwarna.

**pH.** Larutan S, 5,0—6,5.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 1,5 g dalam air sampai volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah -27,6 sampai -29,5, dihitung dengan standar terhadap zat batas kering.

**Senyawa positif ninhidrin.** Lakukan dengan kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam asam hidroklorida encer sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar treonin dalam asam hidroklorida (1% v/v) sampai volume 50 ml.

**Larutan standar (b).** encerkan 5 ml larutan uji (b) sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar treonin dan prolin dalam asam hidroklorida (1% v/v) sampai batas volume 25 ml.

**Fase gerak.** Campur 20 volume asam asetat glasial, 20 volume air dan 60 volume butanol.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan tion. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan ninhidrin dan panaskan pada suhu 105°C selama 15 menit. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), merupakan bagian bercak utama, adalah tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%). Uji tidak absah, kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) menunjukkan 2 bercak yang terpisah.

**Klorida.** Encerkan 10 ml larutan S dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas klorida (200 ppm).

**Sulfat.** Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas sulfat (300 ppm).

**Amonium.** Pada 50 mg, memenuhi uji batas amonium (200 ppm). Gunakan 0,1 ml larutan standar amonium (100 ppm NH<sub>4</sub>).

**Besi.** Larutkan 1,0 g dalam 10 asam hidroklorida encer. Ekstraksi 3 kali masing-masing dengan 10 ml metil isobutil keton (campur 50 ml 4-metilpentan-2-on hasil penyulingan yang masih segar dengan 0,5 ml asam hidroklorida 7M, kocok selama 1 menit, biarkan terpisah, buang lapisan bawah, larutan harus segar) kocok selama 3 menit. Campur fase organik, tambah 10 ml air, kocok selama 3 menit. Memenuhi uji batas besi (10 ppm).

**Logam berat.** Pada 2,0 g memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,1 g dalam 3 ml asam format anhidrat. Tambah 30 ml asam asetat glasial. Titrasi dengan asam perklorat 0,1M. Tentukan titik akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 11,91 mg  $C_4H_9NO_3$ .

#### Penyimpanan

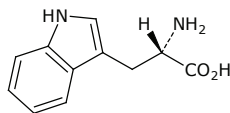
Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Asam amino.

### Triptofan

*Tryptophan*



$C_{11}H_{12}N_2O_2$

BM : 204,2

[73-22-3]

#### Definisi

Triptofan mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% dari asam (S)-2-amino-3-(1H-indol-3-il)propanoat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau serbuk amorf.

**Kelarutan.** Sukar larut dalam air, sukar larut dalam alkohol. Larut dalam asam mineral dan natrium hidroksida encer.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: A, C, D.

- Memenuhi uji rotasi jenis.
- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar triptofan.
- Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji zat positif ninhidrin. Bercak utama pada kromatogram

yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

- Larutkan 20 mg dalam 10 ml air. Tambah 5 ml dimetilaminobenzaldehida [larutkan 0,125 g 4-dimetilaminobenzaldehida dalam campuran dingin dari 65 ml asam sulfat dan 35 ml air dan tambah 0,1 ml besi (III) klorida 5% b/v. Biarkan selama 24 jam, lindungi dari cahaya] dan 2 ml asam hidroklorida 2 ml. Panaskan di atas penangas air. Terbentuk warna biru-ungu.

**Kejernihan larutan.** Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam asam hidroklorida 1 M sampai volume 10 ml. Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibanding dengan larutan standar BY<sub>6</sub>.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,25 g dalam air, panaskan jika perlu, sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah -30,0 sampai -33,0, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Senyawa positif ninhidrin.** Lakukan dengan kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan 0,1 g zat uji dalam campuran asam asetat glasial dan air dengan volume yang sama sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dalam campuran asam asetat dan air dengan volume yang sama sampai volume 50 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar triptofan dalam campuran asam asetat glasial dan air dengan volume yang sama sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5 ml larutan uji (b) dalam campuran asam asetat glasial dan air dengan volume yang sama sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan 10 mg standar triptofan dan 10 mg standar tirosin dalam campuran asam asetat glasial dan air dengan volume yang sama sampai batas volume 25 ml.

**Fase gerak.** Campur 20 volume asam asetat glasial, 20 volume air dan 60 volume butanol.

Totolkan 5  $\mu$ l secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan tion. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan ninhidrin dan panaskan pada suhu 105°C selama 15 menit. Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), merupakan bagian bercak utama, adalah tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%). Uji tidak absah, kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) menunjukkan 2 bercak yang terpisah.

**1,1'-Etilidenebistriptofan dan senyawa sejenis lain.** Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Dapar pH 2,3.** Larutkan 3,90 g natrium dihidrogen fosfat dalam 1000 ml air. Tambah 700 ml asam fosfat

(2,9 g/l) dan atur pH 2,3 dengan asam fosfat. Larutan harus segar.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 10,0 mg N-asetiltryptofan dalam campuran 10 volume asetonitril dan 90 volume air sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 2,0 ml dengan campuran yang sama sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,10 g zat uji dalam campuran 10 volume asetonitril dan 90 volume air sampai volume 10,0 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan dan encerkan 0,10 g zat uji dalam larutan standar sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 1,0 mg standar 1,1'-etilidenebistryptofan dalam campuran 10 volume asetonitril dan 90 volume air sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 10,0 ml larutan standar (a) dalam larutan standar (a) sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 10,0 ml larutan standar (a) dengan campuran 10 volume asetonitril dan 90 volume air sampai batas volume 50,0 ml.

**Larutan standar (d).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam larutan standar (c) sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (e).** Encerkan 1,0 ml larutan standar (c) dalam campuran 10 volume asetonitril dan 90 volume air sampai volume 10,0 ml.

**Kolom.** Silika gel oktadesilsilil, 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai dengan suhu 40°C.

**Fase gerak A.** Campur 115 volume asetonitril dan 885 volume dapar pH 2,3.

**Fase gerak B.** Campur 350 volume asetonitril dan 650 volume dapar pH 2,3.

**Laju alir.** 0,7 ml/menit.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)	Keterangan
0 — 10	100	0	Isokratik
10 — 45	100 → 0	0 → 100	Linier gradien
45 — 65	0	100	Isokratik
65 — 66	0 → 100	100 → 0	Linier gradien
66 — 80	100	0	Re-ekuilibriasi

Injek 20 µl larutan standar (b), (d) dan (e). Waktu tambat tryptofan sekitar 8 menit, N-asetiltryptofan sekitar 29 menit dan 1,1'-etilidenebistryptofan sekitar 34 menit. Atur sensitivitas sistem, sehingga tinggi puncak N-asetiltryptofan pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) adalah 50% skala penuh. Uji tidak absah, kecuali jika: (A). Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b), resolusi antara puncak N-asetiltryptofan dan 1,1'-etilidenebistryptofan adalah 8,0. Jika perlu, Atur waktu elusi gradien. Peningkatan selama elusi dengan fase gerak A menghasilkan waktu tambat dan resolusi yang baik; (B). Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e) mempunyai rasio pengganggu sekitar 15.

Injek 20 µl larutan uji (a) dan (b). Periksa kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), tidak ada puncak dengan waktu tambat yang sama dengan N-asetiltryptofan (dalam beberapa kasus, koreksi area puncak N-asetiltryptofan). Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b): area puncak 1,1'-etilidenebistryptofan adalah tidak lebih besar dari 0,5 kali area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (e) (10 ppm); Jumlah area puncak dengan waktu tambat kurang dari waktu tambat tryptofan adalah tidak lebih dari 0,6 kali area puncak N-asetiltryptofan pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (100 ppm); jumlah area dengan waktu tambat lebih besar dari waktu tambat tryptofan, merupakan bagian N-asetiltryptofan, dan sampai 1,8 kali waktu tambat N-asetiltryptofan, tidak lebih besar dari 1,9 kali area puncak N-asetiltryptofan pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b) (300 ppm). Abaikan puncak kurang dari 0,02 kali area puncak N-asetiltryptofan pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (b).

**Klorida.** Larutkan 0,25 g dalam 3 ml asam nitrat encer dan encerkan dengan air sampai volume 15 ml. Memenuhi uji batas klorida (200 ppm).

**Sulfat.** Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam campuran 5 volume asam hidroklorida encer dan 25 volume air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas sulfat (300 ppm).

**Amonium.** Pada 0,1 g, memenuhi uji batas amonium (200 ppm). Gunakan 0,1 ml larutan standar amonium (100 ppm NH<sub>4</sub>).

**Besi.** Larutkan 1,0 g dalam 10 ml asam hidroklorida encer. Ekstraksi 3 kali masing-masing dengan 10 ml metil isobutil keton (campur 50 ml 4-metilpentan-2-on hasil penyulingan yang masih segar dengan 0,5 ml asam hidroklorida 7 M, kocok selama 1 menit, biarkan terpisah, buang lapisan bawah, larutan harus segar) kocok selama 3 menit. Campur fase organik, tambah 10 ml air, kocok selama 3 menit. Memenuhi uji batas besi (10 ppm).

**Logam berat.** Pada 12 mg, memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

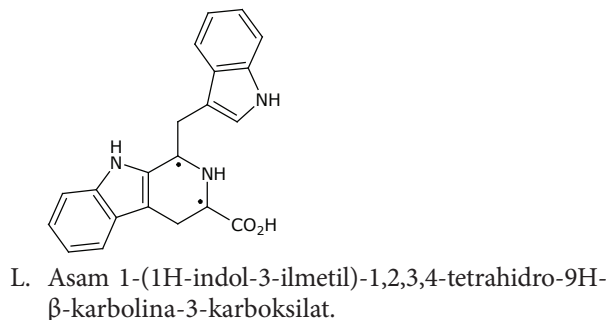
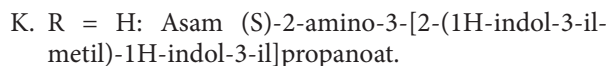
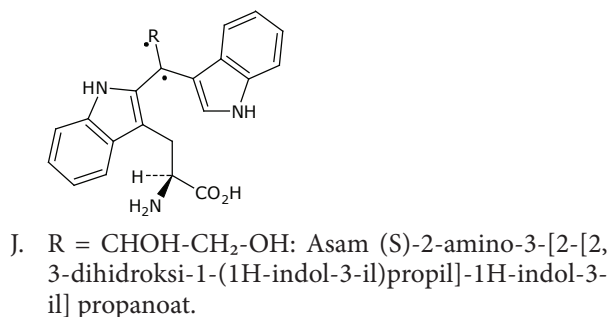
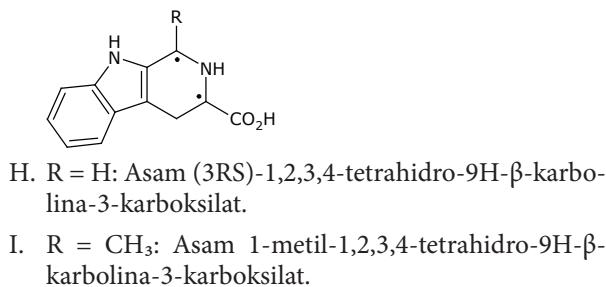
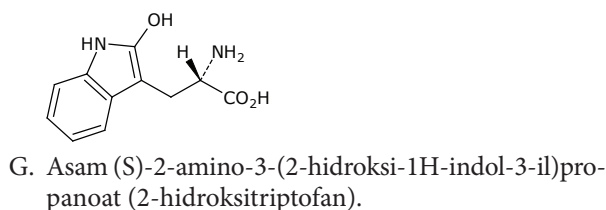
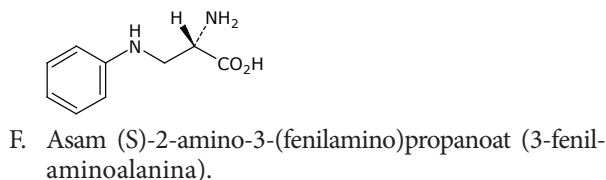
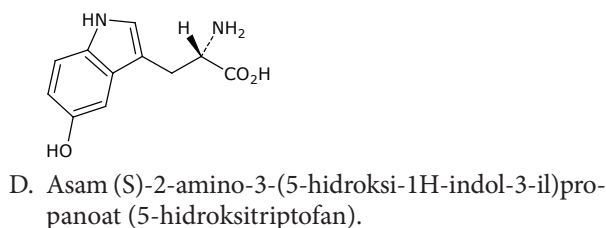
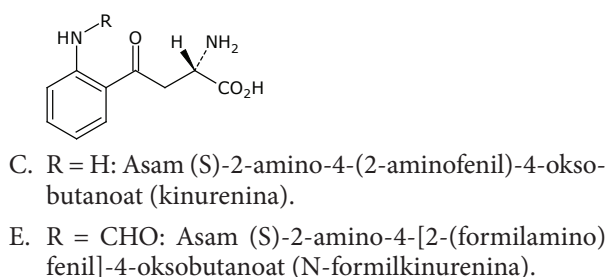
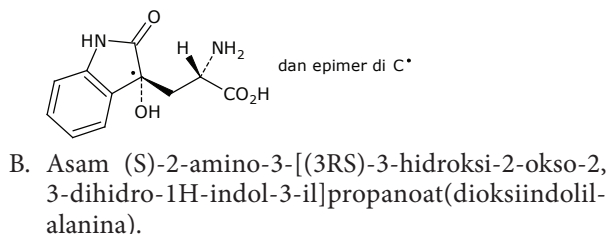
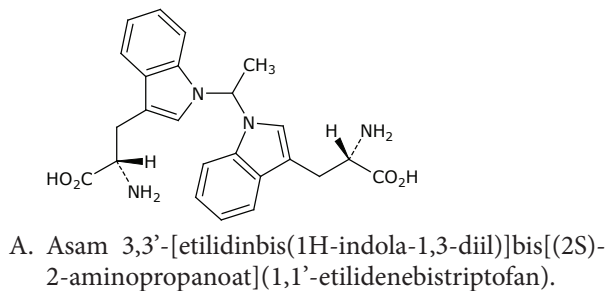
#### Penetapan kadar

Larutkan 0,1 g dalam 3 ml asam format anhidrat. Tambah 30 ml asam asetat glasial. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M. Dan gunakan 0,1 ml of naftolbenzen sebagai indikator. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 20,42 mg C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

#### Penyimpanan

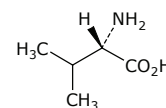
Dilindungi dari cahaya.

**Ketidakhurnian**



**Khasiat**  
Asam amino.

**Valin**  
*Valine*



C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>      BM : 117,1      [72-18-4]

**Definisi**  
Valin mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% dari asam (S)-2-amino-3-metilbutanoat, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**  
**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau kristal tidak berwarna.

**Kelarutan.** Larut dalam air, sukar larut dalam alkohol.

**Identifikasi**  
Identifikasi pertama: A, B.  
Identifikasi kedua: A, C.

A. Memenuhi uji rotasi jenis.  
B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar valin.  
C. Periksa kromatogram yang diperoleh dalam uji zat positif ninhidrin. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (b) sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar (a).

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air sampai batas volume 100 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan dengan larutan standar BY<sub>6</sub>.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam asam hidroklorida encer sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis adalah +26,5 sampai +29,0, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Zat positif ninhidrin.** Lakukan dengan kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel atau yang sesuai.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g zat uji dalam air sampai volume 10 ml.

**Larutan uji (b).** Encerkan 1 ml larutan uji (a) dengan air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar valin dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 50 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5 ml larutan uji (b) dengan air sampai volume 20 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan 10 mg standar fenilalanin dan 10 mg standar valin dalam asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 25 ml.

**Fase gerak.** Campur 20 volume asam asetat glasial, 20 volume air dan 60 volume butanol.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan tion. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan ninhidrin dan panaskan pada suhu 105°C selama 15 menit.

Bercak pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji (a), merupakan bagian bercak utama, adalah tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,5%).

Uji tidak absah, kecuali jika pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) menunjukkan 2 bercak yang terpisah.

**Klorida.** Encerkan 10 ml larutan S dengan air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas klorida (200 ppm).

**Sulfat.** Larutkan dan encerkan 0,5 g dalam air sampai volume 15 ml. Larutan memenuhi uji batas sulfat (300 ppm).

**Amonium.** Pada 50 mg, memenuhi uji batas amonium (200 ppm). Gunakan standar amonium (100 ppm NH<sub>4</sub>).

**Besi.** Larutkan 1,0 g dalam 10 asam hidroklorida encer. Ekstraksi 3 kali masing-masing dengan 10 ml metil isobutil keton (campur 50 ml 4-metilpentan-2-on hasil penyulingan yang masih segar dengan 0,5 ml asam hidroklorida 7 M, kocok selama 1 menit, biarkan terpisah, buang lapisan bawah, larutan harus segar) kocok selama 3 menit. Campur fase organik, tambah 10 ml air, kocok selama 3 menit. Memenuhi uji batas besi (10 ppm).

**Logam berat.** Pada 2,0 g, memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan standar timbal (10 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,1 g dalam 3 ml asam format anhidrat. Tambah 30 ml asam asetat glasial. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M. Tentukan titik akhir secara potensiometrik. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 11,71 mg C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>.

#### Penyimpanan

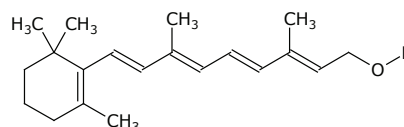
Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Asam amino.

## Vitamin A

### Retinol



C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O	BM : 286,5
C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	BM : 328,5
C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	BM : 342,5
C <sub>36</sub> H <sub>60</sub> O <sub>2</sub>	BM : 524,9

#### Definisi

Vitamin A mengacu pada sejumlah dari zat dengan struktur yang sama (termasuk (Z)-isomer) ditemukan dalam jaringan hewan dan mempunyai proses aktivitas yang sama. Secara biologis zat aktif utama vitamin A adalah all-(E)-retinol (all-(E)-3,7-dimetil-9-(2,6,6-trimetilsikloheks-1-enil)nona-2,4,6,8-tetraen-1-ol; C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O). Secara umum vitamin A adalah dalam bentuk ester seperti asam asetat, propionat dan palmitat.

Sintesis ester retinol mengacu pada ester (asam asetat, propionat atau palmitat) atau campuran sintesis retinol ester.

Internasional Unit (IU) digunakan untuk menyatakan aktivitas vitamin A. Setiap IU vitamin A setara dengan 0,300 µg dari all-(E)-retinol. Aktivitas ester retinol lain dihitung secara stoikiometrik; setiap IU vitamin A setara dengan 0,344 µg dari all-(E)-retinol asetat, 0,359 µg dari all-(E)-retinol propionat dan 0,550 µg dari all-(E)-retinol palmitat. Setiap mg retinol setara dengan 3333 IU.

#### Karakteristik

##### Pemerian

**Retinol asetat.** Kristal kuning terang (suhu lebur 60°C).

**Retinol propionat.** Cairan minyak coklat kemerahan.

**Retinol palmitat.** Cairan minyak kental kuning atau padatan kuning terang (suhu lebur 26°C).

**Kelarutan**

**Semua ester retinol.** Praktis tidak larut dalam air, larut atau sebagian larut dalam etanol dan dapat bercampur dengan pelarut organik.

**Vitamin A dan esternya.** Sangat sensitif terhadap udara, zat oksidasi, asam, cahaya dan panas.

**Identifikasi**

A. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutan mengandung 3,3 IU/ $\mu$ l dalam sikloheksan (mengandung 1 g/l butil hidroksitoluen).

**Larutan standar.** Standar ester retinol 10 mg/ml (3,3 IU/ $\mu$ l ester) dalam sikloheksan (mengandung 1 g/l butilhidroksitoluen).

**Lempeng.** Silika gel F<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur eter dan sikloheksan (20:80 v/v).

Totolkan secara terpisah 3  $\mu$ l dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm).

**Kesesuaian sistem larutan standar.** Pada kromatogram menunjukkan bercak individual ester. Pemisahan dari bawah ke atas, retinol asetat, retinol propionat dan retinol palmitat.

**Hasil.** Komposisi ester ditetapkan oleh bercak utama yang diperoleh larutan uji dengan yang diperoleh larutan standar.

B. Memenuhi uji untuk senyawa sejenis.

**Retinol.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutan mengandung 330 IU/ $\mu$ l vitamin A dalam sikloheksan (mengandung 1 g/l butilhidroksitoluen).

**Larutan standar.** Campur 1 ml larutan uji dengan 20 ml tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M dalam 2-propanol, aduk selama 2 menit dan encerkan dengan sikloheksan (mengandung 1 g/l butilhidroksitoluen) sampai batas volume 100 ml.

**Lempeng.** Silika gel F<sub>254</sub> atau yang sesuai.

Totolkan secara terpisah 3  $\mu$ l dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm).

**Kesesuaian sistem larutan standar.** Pada kromatogram yang diperoleh hanya bercak ester retinol yang terlihat.

**Batas.** Bercak lain retinol pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (1,0%).

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan: Larutan memperlihatkan serapan maksimum pada panjang gelombang 325—327 nm. Ukur serapan pada panjang gelombang 300 nm, 350 nm dan 370 nm serta hitung perbandingan A<sub>1</sub>/A<sub>326</sub> untuk setiap

panjang gelombang. Tidak ada satupun perbandingan A<sub>1</sub>/A<sub>326</sub> lebih dari 0,60 pada panjang gelombang 300 nm, 0,54 pada 350 nm dan 0,14 pada 370 nm.

**Aktivitas.** Lakukan dengan metode spektrofotometri, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 25 -100 mg dengan ketelitian 0,1% dalam 5 ml pentan dan encerkan dengan 2-propanol sampai konsentrasi 10—15 IU/ml.

Ukur serapan maksimum pada panjang gelombang 326 nm. Hitung vitamin A dalam IU/g dengan rumus:

$$\frac{A_{326} \times V \times 1900}{100 \times m}$$

Keterangan:

A<sub>326</sub> = serapan pada panjang gelombang 326 nm

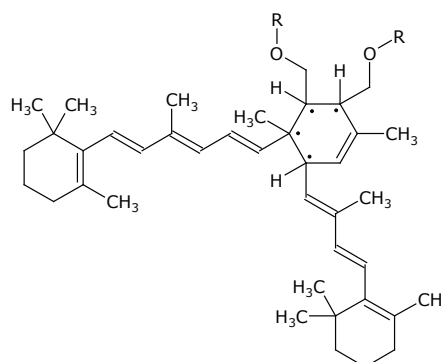
m = massa zat uji dalam gram

V = total volume yang digunakan sampai konsentrasi 10—15 IU/ml;

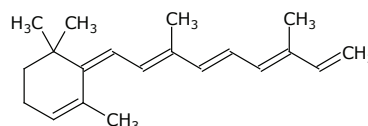
1900 = faktor konversi serapan spesifik ester dari retinol dalam IU/g.

**Penyimpanan**

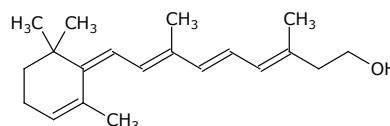
Kedap udara dan dilindungi dari cahaya.

**Ketidakhurnian**

A. R = H, CO-CH<sub>3</sub>: Kitol (Diels-Alder dimers dari vitamin A).

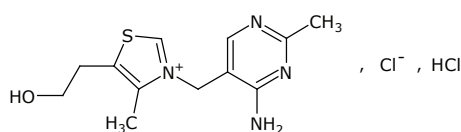


B. (3E,5E,7E)-3,7-dimetil-9-[(1Z)-2,6,6-trimetilsikloheks-2-enilidena]nona-1,3,5,7-tetraena (anhidro-vitamin A).



C. (3E,5E,7E)-3,7-dimetil-9-[(1Z)-2,6,6-trimetilsikloheks-2-enilidena]nona-3,5,7-trien-1-ol (retro-vitamin A).

D. Produk oksidasi vitamin A.

**Vitamin B<sub>1</sub>***Thiamine Hydrochloride*C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>4</sub>OS, HCl      BM : 337,27      [67-03-8]**Definisi**

Vitamin B<sub>1</sub> adalah 3-[(4-amino-2-metilpirimidin-5-il)metil]-5-(2-hidroksietil)-4-metiltiazolium hidroklorida.

Mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk hablur putih.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, sukar larut dalam alkohol, larut dalam gliserol.

**Identifikasi**

- Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar tiamin hidroklorida.
- Larutkan 20 mg dalam 10 ml air, tambah 1 ml asam asetat encer dan 1,6 ml natrium hidroksida 1 M, panaskan di atas penangas air selama 30 menit, dinginkan. Tambah 5 ml larutan natrium hidroksida, 10 ml larutan kalium ferrisianida dan 10 ml butanol, kocok selama 2 menit. Periksa serapan pada panjang gelombang 365 nm. Ulang pengujian menggunakan 0,9 ml natrium hidroksida 1 M dan 0,2 g natrium sulfat dalam natrium hidroksida 1,6 ml 1 M.
- Memberikan reaksi klorida.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air sampai batas volume 25 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar.

**pH.** Larutan 1% b/v, pH 2,7—3,4.

**Senyawa sejenis.** Lakukan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan (A).** Campuran 5 volume asam asetat glasial dan 95 volume air.

**Larutan uji.** Larutkan 0,35 g zat uji sampai 15 ml larutan A dan encerkan sampai batas volume 100 ml dengan air.

**Larutan standar.** Larutkan 5 mg zat uji dan 5 mg ketidakhurnian tiamin dalam 4 ml larutan A dan encerkan dengan air sampai batas volume 25 ml. Pada 5 ml larutan, encerkan dengan air sampai batas volume 25 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,0 mm atau yang sesuai, suhu 45°C.

**Fase gerak A.** Natrium heksansulfonat 3,764 g/l, atur pH 3,1 dengan asam fosfat.

**Fase gerak B.** Metanol.

Waktu (menit)	Fase gerak A (% v/v)	Fase gerak B (% v/v)
0 — 25	90 → 70	10 → 30
25 — 33	70 → 50	30 → 50
33 — 40	50	50
40 — 45	50 → 90	50 → 10

**Laju alir.** 1,0 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 248 nm.

**Injek.** 25 µl.

**Waktu tambat relatif.** Standar tiamin sekitar 30 menit, ketidakhurnian A sekitar 0,3, ketidakhurnian B sekitar 0,9 dan ketidakhurnian C sekitar 1,2.

**Kesesuaian sistem larutan standar.** Resolusi tidak kurang dari 1,6 antara puncak ketidakhurnian E dan tiamin.

**Batas**

**Ketidakhurnian lain.** Tidak lebih dari area puncak utama pada kromatogram dengan larutan standar (b) (0,4%).

**Total.** Tidak lebih dari 2,5 kali area puncak utama pada kromatogram dengan larutan standar (b) (1,0%).

**Abaikan batas.** Area puncak utama pada kromatogram tidak lebih dari 0,125 kali larutan standar (b) (0,05%).

**Sulfat.** Tidak lebih dari 300 ppm. Pada 5 ml larutan S, encerkan dengan air sampai volume 15 ml.

**Logam berat.** Tidak lebih dari 20 ppm. Pada 12 ml larutan S memenuhi uji batas logam berat. Gunakan standar timbal (2 ppm Pb).

**Air.** Tidak lebih dari 5,0%. Gunakan 0,04 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

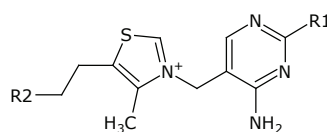
**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C selama 2 jam sampai bobot tetap. Gunakan 0,5 g.

**Penetapan kadar**

Larutkan 0,110 g dalam 5 ml asam format anhidrat, tambah 50 ml asam asetat glasial. Titrasi menggunakan asam perklorat, tentukan titik akhir secara potensiometrik. Lakukan titrasi blanko. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 16,86 C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>ClN<sub>4</sub>OS.

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup baik, dilindungi dari cahaya.

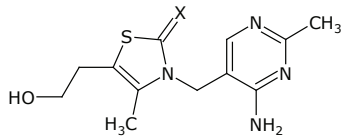
**Ketidakhurnian**

A. R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = O-SO<sub>3</sub>: 3-[(4-amino-2-metilpirimidin-5-il)metil]-4-metil-5-[2-(sulfonatooksietil) tiazolium (tiamina sulfat ester).

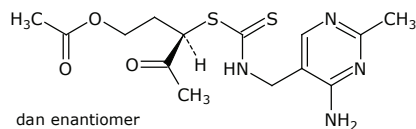
B. R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OH: 3-[(4-aminopirimidin-5-il)metil]-5-(2-hidroksietil)-4-metiltiazolium (desmetiltiamina).



- C. R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = Cl: 3-[(4-amino-2-metilpirimidin-5-il)metil]-5-(2-kloroetil)-4-metiltiazolium (klorotiamina).
- F. R<sub>1</sub> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, R<sub>2</sub> = OH: 3-[(4-amino-2-etilpirimidin-5-il)metil]-5-(2-hidroksietil)-4-metiltiazolium (etiltiamina).
- G. R<sub>1</sub> = CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> = O-CO-CH<sub>3</sub>: 5-[2-(asetiloksi)etil]-3-[(4-amino-2-metilpirimidin-5-il)metil]-4-metiltiazolium (asetiltiamina).



- D. X = O: 3-[(4-amino-2-metilpirimidin-5-il)metil]-5-(2-hidroksietil)-4-metiltiazol-2(3H)-on (oksotiamina).
- E. X = S: 3-[(4-amino-2-metilpirimidin-5-il)metil]-5-(2-hidroksietil)-4-metiltiazol-2(3H)-tion (tioksotiamina).



- H. (3RS)-3-[[[(4-amino-2-metilpirimidin-5-il)metil]tiokarbamoil]sulfanil]-4-oksopentilasetat (ketoditiokarbamat).

- B. Periksa kromatogram yang diperoleh dalam lumiflavin. Bercak utama pada kromatogram larutan uji sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak yang diperoleh dengan larutan standar.
- C. Larutkan 1 mg dengan air sampai batas volume 100 ml. Larutan berwarna kuning pucat dengan transmisi cahaya, berwarna kuning hijau berfluoresensi dengan cahaya balik dan menghilang dengan penambahan asam mineral atau alkali.

**Rotasi jenis.** Antara +115° dan +135°, dihitung dengan standar terhadap zat kering. Larutkan dan encerkan 50,0 mg dalam natrium hidroksida 0,05 M bebas karbonat sampai volume 10,0 ml.

**Serapan cahaya.** Encerkan larutan untuk penetapan kadar dengan volume yang sama dengan air. Larutan menunjukkan 4 maksimum pada panjang gelombang 223 nm, 267 nm, 373 nm dan 444 nm. Perbandingan serapan pada maksimum 373 nm dengan maksimum 267 nm adalah 0,31—0,33 dan perbandingan serapan pada maksimum 444 nm dengan maksimum pada 267 nm adalah 0,36—0,39.

**Lumiflavin.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji (a).** Larutkan 25 mg dalam air sampai volume 10 ml, aduk selama 5 menit dan saring.

**Larutan uji (b).** Larutkan 25 mg zat uji dalam metilen klorida sampai volume 10 ml dan saring.

**Larutan standar (a).** Larutkan 25 mg standar riboflavin dalam air sampai volume 10 ml, aduk selama 5 menit dan saring.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 25 mg standar lumiflavin dalam metilen klorida sampai batas volume 50,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan metilen klorida sampai volume 20,0 ml.

**Larutan standar (c).** Encerkan 2,5 ml larutan uji (b) dengan metilen klorida sampai batas volume 100,0 ml.

**Lempeng.** Silika gel, ukuran 2-10 μm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Air.

**Perlakuan.** Untuk masing-masing perlakuan dalam udara kering dan dingin.

**Perlakuan pertama.** 2 μl metilen klorida R dengan 2 μl larutan uji (a).

**Perlakuan kedua.** 2 μl metilen klorida R dengan 2 μl larutan standar (a).

**Perlakuan ketiga.** 2 μl larutan standar dengan 2 μl larutan standar (a).

**Perlakuan keempat.** 10 μl larutan uji (b).

**Perlakuan kelima.** 10 μl larutan standar (c).

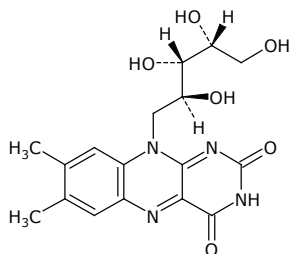
**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 365 nm.

**Kesesuaian sistem.** Pada kromatogram dengan perlakuan ketiga menunjukkan 2 bercak yang terpisah.

**Batas.** Pada kromatogram dengan larutan uji (b), bercak lain tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan terhadap bercak utama pada kromatogram dengan larutan uji.

## Vitamin B<sub>2</sub>

### Riboflavin



C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>

BM : 376,4

[83-88-5]

#### Definisi

Riboflavin adalah 7,8-dimetil-10-[(2S,3S,4R)-2,3,4,5-tetrahidroksipentil]benzo[g]pteridin-2,4(3H,10H)-dion.

Mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal, kuning atau jingga kuning.

**Kelarutan.** Sangat sukar larut dalam air, praktis tidak larut dalam alkohol. Dalam suasana alkali terlihat polimorfisme.

#### Identifikasi

A. Memenuhi uji rotasi jenis.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 1,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan hasil residu dari susut pengeringan.

#### Penetapan kadar

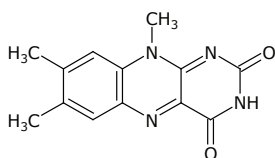
Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Suspensikan 65,0 mg dalam 5 ml air, tambah 5,0 ml larutan natrium hidroksida 100 ml air dan 2,5 ml asam asetat glasial dan encerkan dengan air sampai batas volume 500,0 ml. Pada 20,0 ml larutan, tambah 3,5 ml natrium asetat (14 g/l) dan encerkan dengan air sampai batas volume 200,0 ml.

Ukur serapan pada panjang gelombang 444 nm.

#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup rapat dan dilindungi dari cahaya.

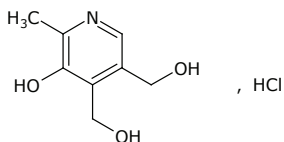
#### Ketidakmurnian.



7,8,10-trimetilbenzo[g]pteridina-2,4(3H,10H)-dion (Lumiflavin).

## Vitamin B<sub>6</sub>

### Pyridoxine Hydrochloride



C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>, HCl

BM : 205,64

[58-56-0]

#### Definisi

Vitamin B<sub>6</sub> adalah (5-hidroksi-6-metilpiridin-3,4-diil) dimetanol hidroklorida. Mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0% dihitung dengan standar terhadap zat yang kering.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau tidak berwarna.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, sukar larut dalam alkohol.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: B, D.

Identifikasi kedua: A, C, D.

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar piridoksin hidroklorida.

B. Encerkan 1,0 ml larutan S dengan asam hidroklorida 0,1 M sampai batas volume 50,0 ml (larutan A). Encerkan 1,0 ml larutan A dengan asam hidroklorida sampai batas volume 100,0 ml. Ukur serapan pada

panjang gelombang 250—350 nm, menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 288—296 nm. Serapan spesifik maksimum pada panjang gelombang 425—445 nm. Encerkan 1,0 ml larutan A dengan campuran kalium dihidrogen fosfat 0,025 M dan larutan dinatrium hidrogen fosfat. Ukur serapan pada panjang gelombang 220 nm dan 350 nm, menunjukkan 2 serapan maksimum pada 248—256 nm dan 320—327 nm. Serapan spesifik maksimum pada 175—195 nm dan 345—365.

C. Periksa kromatogram larutan uji untuk Senyawa Sejenis. Bercak utama pada kromatogram larutan uji sesuai pada tempat, warna dan ukuran bercak utama pada kromatogram dengan larutan standar.

D. Larutan S memberikan reaksi klorida.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 50,0 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar.

**pH.** Larutan S pH 2—3,0.

**Senyawa sejenis.** Lakukan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 1,0 g zat uji dengan air sampai volume 10,0 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan 1,0 ml larutan uji (a) dengan air sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 0,10 g piridoksin hidroklorida dengan air sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 2,5 ml larutan uji dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

**Fase gerak.** Campur 9 volume amoniak, 13 volume metilen klorida, 13 volume tetrahidrofuran dan 65 volume aseton.

Totolkan secara terpisah 2 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot dengan natrium karbonat (50 g/l) dalam campuran 30 volume alkohol dan 70 volume air. Keringkan dengan bantuan udara aliran udara. Semprot dengan diklorokuinon klorimida (1 g/l) dalam alkohol. Bercak lain pada kromatogram sama dengan bercak utama yang diperoleh larutan uji, tidak lebih kuat intensitas warnanya terhadap bercak pada kromatogram yang diperoleh larutan standar (b) (0,25%). Abaikan bercak yang muncul pada garis awal.

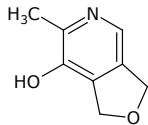
**Logam berat.** Pada 12,0 ml larutan S dibandingkan dengan larutan uji A (20 ppm). Gunakan standar timbal (1 ppm Pb).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C sampai bobot tetap. Gunakan 1,0 g.

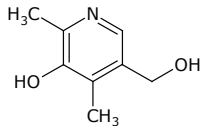
**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,150 g dengan 5 ml asam format anhidrat. Tambah 50 ml asetat anhidrat. Titrasi dengan asam perklorat, tentukan titik akhir secara potensiometrik. Lakukan titrasi blanko. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 20,56 mg C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>, HCl.

**Ketidakhurnian**

A. 6-metil-1,3-dihidrofuro[3,4-c]piridin-7-ol.



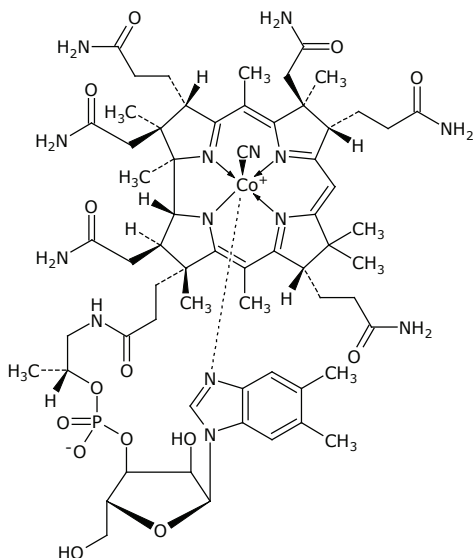
B. 5-(hidroksimetil)-2,4-dimetilpiridin-3-ol

**Penyimpanan**

Dalam wadah tertutup rapat dan dilindungi dari cahaya.

## Vitamin B<sub>12</sub>

### Cyanocobalamin



C<sub>63</sub>H<sub>88</sub>CoN<sub>14</sub>O<sub>14</sub>P

BM: 1355,35

[68-19-9]

**Definisi**

Vitamin B<sub>12</sub> adalah α-(5,6-dimetilbenzimidazol-1-il)kobamida sianida.

Vitamin B<sub>12</sub> mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 102,0%, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Kristal atau serbuk kristal merah tua. Bentuk anhidrat sangat higroskopik.

**Kelarutan.** Agak sukar larut dalam air dan alkohol, praktis tidak larut dalam aseton.

**Identifikasi**

A. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar sianokobalamin. Larutkan dan encerkan 2,5 mg dengan air sampai batas volume 100,0 ml. Periksa serapan pada panjang gelombang 260 nm dan 610 nm, larutan menunjukkan 3 serapan maksimum pada panjang gelombang

278 nm, panjang gelombang 361 nm dan panjang gelombang 547—559 nm. Nilai serapan pada panjang gelombang maksimum 361 nm, panjang gelombang 547—559 nm adalah 3,15—3,45. Nilai serapan pada maksimum 361 nm—278 nm adalah 1,70—1,90.

B. Lakukan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan 2 mg zat uji dalam 1,0 ml campuran alkohol dan air dengan volume yang sama.

**Larutan standar.** Larutkan 2 mg standar sianokobalamin dalam 1,0 ml campuran alkohol dan air dengan volume yang sama.

**Fase gerak.** Campur 9 volume larutan amonia, 30 volume metanol dan 45 volume metilen klorida.

Totolkan secara terpisah 10 µl dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dari larutan uji sesuai pada tempat, warna dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh larutan standar.

**Senyawa sejenis.** Lakukan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 10,0 mg zat uji dalam fase gerak sampai volume 10,0 ml. Larutan harus segar.

**Larutan standar (a).** Encerkan 3,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml. Larutan harus segar.

**Larutan standar (b).** Encerkan 5,0 ml larutan uji dengan fase gerak sampai batas volume 50,0 ml. Pada 1,0 ml larutan, encerkan dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml. Larutan harus segar.

**Larutan standar (c).** Larutkan 25 mg zat uji dengan air sampai volume 10,0 ml, panaskan, dinginkan dan tambah 5 ml kloramin (1,0 g/l) dan 0,5 ml asam hidroklorida 0,05 M. Encerkan dengan air sampai batas volume 25,0 ml. Kocok dan diamkan selama 5 menit. Encerkan 1 ml larutan dengan fase gerak sampai 10,0 ml. Larutan harus segar.

**Kolom.** Oktilsilil (5 µm), ukuran 25 cm x 4 mm atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 26,6 volume metanol dan 73,5 volume disodium hidrogen fosfat (10 g/l), atur pH dengan asam fosfat.

**Laju alir.** 0,8 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 361 nm.

**Injek.** 20 µl dari setiap larutan.

**Waktu uji.** 3 kali waktu tambat sianokobalamin.

Pada kromatogram yang diperoleh dari larutan uji, jumlah area dari puncak lain yang merupakan bagian dari puncak utama tidak lebih besar dari area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh dari larutan standar (a) (3%). Abaikan batas dari area yang kurang dari puncak utama pada kromatogram yang diperoleh

dengan larutan standar (b). Uji tidak absah kecuali jika, pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c), menunjukkan 2 puncak utama, resolusi antara kedua puncak tersebut tidak kurang dari 2,5 dan kromatogram yang diperoleh larutan standar (b) menunjukkan puncak dengan perbandingan puncak gangguan tidak lebih dari 5.

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 12%. Pada pengeringan dengan suhu 105°C secara vakum sampai bobot tetap, Gunakan 20,0 mg.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan larutan uji: Larutkan 25,0 mg dengan air sampai volume 1000 ml. Ukur serapan pada panjang gelombang 361 nm.

#### Penyimpanan

Wadah tertutup rapat, dilindungi dari cahaya.

## Vitamin B<sub>12</sub> Injeksi

#### Definisi

Vitamin B<sub>12</sub> injeksi mengandung vitamin B<sub>12</sub> dalam pembawa yang sesuai.

Injeksi memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan injeksi dan persyaratan berikut.

Mengandung sianokobalamin tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Identifikasi

Memenuhi identifikasi yang tertera pada vitamin B<sub>12</sub>.

**Keasaman.** pH 4—5,5.

#### Penetapan kadar

Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar vitamin B<sub>12</sub>.

#### Penyimpanan

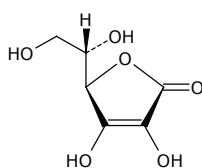
Dalam wadah tertutup, kedap dan dilindungi dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Asam Askorbat

*Ascorbic Acid*



C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>

BM : 176,1

[50-81-7]

#### Definisi

Asam askorbat mengandung tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 100,5% dari (5R)-5-[(1)-1,2-

dihidroksietil]-3,4-dihidroksifuran-2(5H)-on.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, larut dalam alkohol, praktis tidak larut dalam eter.

**Suhu lebur.** 190°C, dengan dekomposisi.

#### Identifikasi

Identifikasi pertama: B, C.

Identifikasi kedua: A, C, D.

A. Larutkan dan encerkan 0,10 g dalam air sampai batas volume 100,0 ml. Pada 1,0 ml larutan, tambah 10 ml asam hidroklorida 0,1 M dan sampai batas volume dengan air 100,0 ml. Ukur serapan maksimum pada panjang gelombang 243 nm dengan segera. Serapan spesifik maksimum adalah 545—585.

B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar asam askorbat.

C. pH larutan S 2,1—2,6.

D. Pada 1 ml larutan S, tambah 2 ml asam nitrat encer dan 0,2 ml larutan perak nitrat. Terbentuk endapan abu-abu.

**Larutan S.** Larutkan dan encerkan 1,0 g dalam air bebas karbon dioksida sampai volume 20 ml.

**Kejernihan larutan.** Larutan S jernih dan tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar BY<sub>7</sub>.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 2,50 g dalam air sampai batas volume 25,0 ml. Rotasi jenis +20,5 sampai +21,5.

#### Asam oksalat

**Larutan uji.** Larutkan 0,25 g dalam 5 ml air. Netralkan dengan larutan natrium hidroksida encer, tambah 1 ml asam asetat encer dan 0,5 ml larutan kalsium klorida. Diamkan selama 1 jam.

**Larutan standar.** Larutkan 70 mg asam oksalat dalam air dan encerkan sampai batas volume 500 ml. Pada 5 ml larutan, tambah 1 ml asam asetat encer dan 0,5 ml larutan kalsium klorida. Diamkan selama 1 jam. Opalesensi dalam larutan uji tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan standar (0,2%).

**Tembaga.** Tidak lebih dari 5 ppm tembaga, lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 2,0 g zat uji dalam asam nitrat 0,1 M sampai volume 25 ml.

**Larutan standar.** Encerkan larutan standar tembaga (10 ppm Cu) dengan asam nitrat 0,1 M sampai konsentrasi 0,2 ppm, 0,4 ppm dan 0,6 ppm tembaga.

Ukur serapan pada panjang gelombang 324,8 nm, gunakan lampu katoda tembaga dan gas asetilen-udara. Lakukan penyesuaian blanko menggunakan asam nitrat 0,1 M.

**Besi.** Tidak lebih dari 2 ppm besi, lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 5,0 g zat uji dalam asam nitrat 0,1 M sampai volume 25,0 ml.

**Larutan standar.** Encerkan larutan standar besi (20 ppm Fe) dengan asam nitrat 0,1 M sampai konsentrasi 0,2 ppm, 0,4 ppm dan 0,6 ppm besi.

Ukur serapan pada panjang gelombang 248,3 nm, gunakan lampu katoda besi dan gas asetilen-udara. Lakukan penyesuaian blanko menggunakan asam nitrat 0,1 M.

**Logam berat.** Larutkan dan encerkan 2,0 g dalam air sampai volume 20 ml. Pada 12 ml larutan memenuhi uji batas logam berat (10 ppm). Gunakan standar timbal (1 ppm Pb).

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,15 g dalam campuran 10 ml asam sulfat encer dan 80 ml air bebas karbon dioksida. Tambah 1 ml larutan kanji. Titrasi dengan iodium 0,05 M sampai terbentuk warna biru-violet. Setiap ml iodium 0,05 M setara dengan 8,81 mg  $C_6H_8O_6$ .

#### Penyimpanan

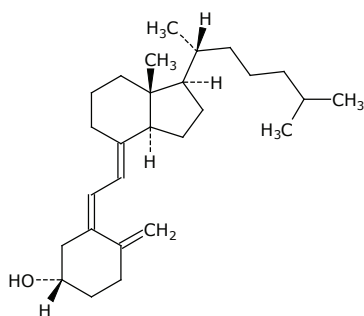
Dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Gunakan dalam defisiensi vitamin C.

### Vitamin D

*Cholecalciferol*



$C_{27}H_{44}O$

BM : 384,6

[67-97-0]

#### Definisi

Kolekalsiferol mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0% dari (5Z,7E)-9,10-sekokolesta-5,7,10(19)-trien-3b-ol. Setiap mg kolekalsiferol setara dengan 40.000 IU aktivitas antirakhitis (vitamin D) dalam tikus.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Kristal putih atau hampir putih.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam alkohol, larut dalam minyak lemak. Sensitif terhadap udara, panas dan cahaya. Larutan mudah menguap dan harus segera digunakan.

#### Identifikasi

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar kolekalsiferol.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,2 g dalam alkohol bebas aldehid sampai volume 25,0 ml. Rotasi jenis +105 sampai +112.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 10,0 mg zat uji dalam 10,0 ml toluen dan encerkan dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 10,0 mg standar kolekalsiferol dalam 10,0 ml toluen dan encerkan dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Encerkan 1,0 ml standar kolekalsiferol dengan fase gerak sampai volume 5,0 ml. Panaskan dalam penangas air pada suhu 90°C di bawah refluks kondensor selama 45 menit dan dinginkan.

**Kolom.** Silika gel 5  $\mu$ m, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Fase gerak.** Campur 3 volume pentanol dan 997 volume heksan.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Injek larutan standar (b). Lakukan penyesuaian sensitivitas sistem sehingga tinggi puncak utama adalah 50% dari skala-penuh.

Injek larutan standar (b) 6 kali. Waktu tambat relatif terhadap kolekalsiferol adalah 0,4 untuk pre-kolekalsiferol dan 0,5 untuk trans-kolekalsiferol. Simpangan baku relatif tidak lebih besar dari 1%, resolusi antara puncak pre-kolekalsiferol dan trans-kolekalsiferol tidak kurang dari 1,0. Jika diperlukan, lakukan penyesuaian komposisi dalam fase gerak dan laju alir fase gerak untuk memperoleh resolusi.

Injek larutan standar (a). Lakukan penyesuaian sensitivitas sistem sehingga tinggi puncak utama adalah 50% dari skala-penuh.

Injek larutan uji dan hitung kolekalsiferol dalam IU/g dengan rumus:

$$\frac{m'}{m} \times \frac{S_D}{S'_D} \times 100$$

Keterangan:

m = jumlah zat uji (mg)

m' = jumlah standar kolekalsiferol dalam larutan standar (a) (mg)

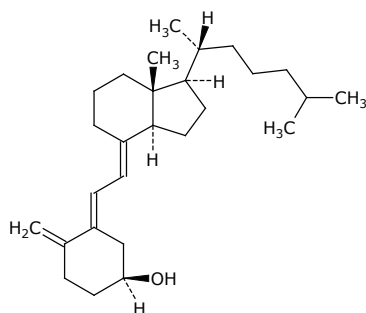
$S_D$  = area kolekalsiferol larutan uji

$S'_D$  = area kolekalsiferol larutan standar (a)

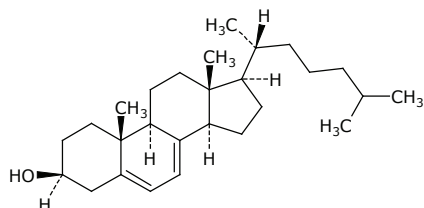
#### Penyimpanan

Simpan pada suhu 2°—8°C.

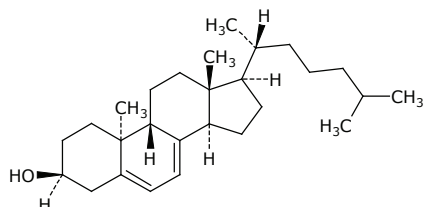
## Ketidakmurnian



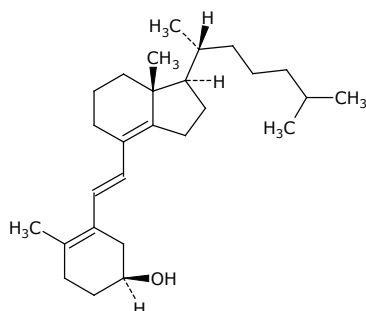
A. (5E,7E)-9,10-secokolesta-5,7,10(19)-trien-3b-ol (transkolekalsiferol, trans-vitamin D<sub>3</sub>).



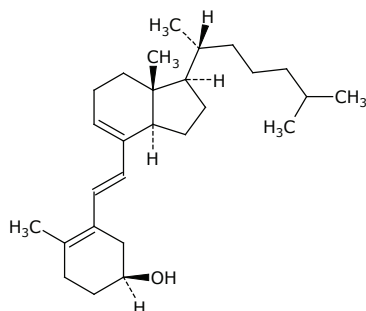
B. Kolesta-5,7-dien-3b-ol (7,8-didehidrokolesterol, provitamin D<sub>3</sub>).



C. 9b,10a-kolesta-5,7-dien-3b-ol (lumisterol 3).



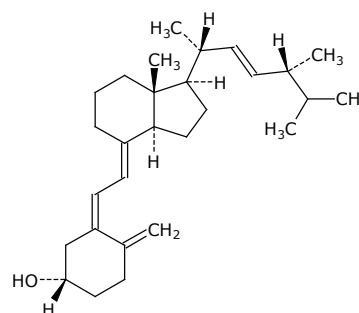
D. (6E)-9,10-secokolesta-5(10),6,8(14)-trien-3b-ol (isotakisterol 3).



E. (6E)-9,10-secokolesta-5(10),6,8-trien-3b-ol (takisterol 3).

## Khasiat

Penanganan kekurangan vitamin D.

Vitamin D<sub>2</sub>  
Ergocalciferol

C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O

BM : 396,7

[50-14-6]

## Definisi

Ergokalsiferol mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0% dari (5Z,7E,22E)-9,10-sekoergosta-5,7,10(19),22-tetraen-3b-ol.

## Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih atau sedikit kekuningan.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam alkohol dan minyak mineral. Sensitif terhadap udara, panas dan cahaya. Larutan dalam pelarut yang mudah menguap tidak stabil dan harus segar.

## Identifikasi

Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar ergokalsiferol.

**Rotasi jenis.** Larutkan dan encerkan 0,2 dalam alkohol bebas aldehid sampai batas volume 25,0 ml. Uji dalam 30 menit +103 sampai +112.

**Pengurangan senyawa.** Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,1 g dalam alkohol bebas aldehid sampai volume 10,0 ml. Tambah 0,5 ml tetrazolium biru (5 g/l dalam alkohol bebas aldehid) dan 0,5 ml tetrametilamonium hidroklorida encer. Biarkan selama 5 menit dan tambah 1,0 ml asam asetat glasial.

**Larutan standar.** Encerkan 10,0 ml larutan yang mengandung hidrokuinon (0,2 µg/ml dalam alkohol bebas aldehid) dalam alkohol bebas aldehid sampai volume 10,0 ml. Tambah 0,5 ml tetrazolium biru (5 g/l dalam alkohol bebas aldehid) dan 0,5 ml tetrametilamonium hidroklorida encer. Biarkan selama 5 menit dan tambah 1,0 ml asam asetat glasial. Ukur serapan pada panjang gelombang 525 nm menggunakan cairan kompensasi 10,0 ml alkohol bebas aldehid. Serapan larutan uji tidak lebih besar dari larutan standar (20 ppm).

**Ergosterol.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel G atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,25 g zat uji dalam etilen klorida yang mengandung skualen (10 g/l) dan butil hidroksitoluen (0,1 g/l) sampai volume 5 ml. Larutan harus segar.

**Larutan standar (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 g standar ergokalsiferol dalam etilen klorida yang mengandung skualen (10 g/l) dan butil hidroksitoluen (0,1 g/l) sampai volume 2 ml. Larutan harus segar.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 5 mg standar ergosterol dalam etilen klorida yang mengandung skualen (10 g/l) dan butil hidroksitoluen (0,1 g/l) sampai batas volume 50 ml. Larutan harus segar.

**Larutan standar (c).** Campur larutan standar (a) dan larutan standar (b) dengan volume yang sama. Larutan harus segar.

**Fase gerak.** Campur sikloheksan dan eter bebas peroksida dengan volume yang sama, campuran mengandung butilhidroksitoluen (0,1 g/l).

Totolkan 10 µl secara terpisah pada lempeng dari larutan uji, larutan standar (a), (b) dan 20 µl larutan standar (c). Lindungi dari cahaya. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Semprot 3 kali dengan antimoni triklorida. (Larutkan 110 g antimoni triklorida dalam 400 ml 1,2-dikloroetan. Tambah 2 g aluminium oksida anhidrat, aduk dan saring. Encerkan dengan 1,2-dikloroetan sampai batas volume 500 ml, aduk. Serapan larutan pada panjang gelombang 500 nm tidak lebih dari 0,7). Periksa kromatogram selama 4 menit setelah penyemprotan. Bercak utama yang diperoleh dengan larutan uji adalah coklat. Pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji, secara perlahan terlihat bercak violet (ergosterol) di bawah bercak utama dan tidak lebih kuat intensitas dibandingkan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (b) (0,2%). Tidak ada bercak yang tidak sesuai dengan bercak yang diperoleh dengan bercak pada larutan standar (a) dan (b). Uji tidak absah, kecuali jika kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) menunjukkan dua bercak yang terpisah.

**Penetapan kadar**

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 10,0 mg zat uji dalam 10,0 ml toluen dan encerkan dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (a).** Larutkan 10,0 mg standar ergokalsiferol dalam 10,0 ml toluen dan encerkan dengan fase gerak sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (b).** Larutkan 1,0 ml standar kolekalsiferol dengan fase gerak sampai volume 5,0 ml. Panaskan dalam penangas air pada suhu 90°C dengan refluks kondensor selama 45 menit dan dinginkan.

**Kolom.** Silika gel 5 µm, 25 cm x 4,6 mm.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Fase gerak.** Campur 3 volume pentanol dan 997 volume heksan.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Injek larutan standar (b).** Lakukan penyesuaian sensitivitas sistem sehingga tinggi puncak utama adalah 50% dari skala-penuh.

**Injek larutan standar (b).** 6 kali. Waktu tambat relatif terhadap kolekalsiferol adalah 0,4 untuk pre-kolekalsiferol dan 0,5 untuk trans-kolekalsiferol. Simpangan baku relatif kolekalsiferol tidak lebih besar dari 1% serta resolusi antara puncak pre-kolekalsiferol dan trans-kolekalsiferol tidak kurang dari 1,0. Jika diperlukan, lakukan penyesuaian komposisi dalam fase gerak dan laju alir fase gerak untuk memperoleh resolusi ini.

**Injek larutan standar (a).** Lakukan penyesuaian sensitivitas sistem sehingga tinggi puncak utama adalah 50% dari skala-penuh.

Injek larutan uji dan hitung kolekalsiferol dalam IU/g dengan rumus:

$$\frac{m'}{m} \times \frac{S_D}{S'_D} \times 100$$

Keterangan:

m = jumlah zat uji (mg)

m' = jumlah kolekalsiferol dalam larutan standar (a) (mg)

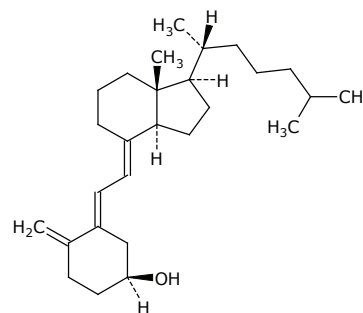
S<sub>D</sub> = area kolekalsiferol larutan uji

S'<sub>D</sub> = area kolekalsiferol larutan standar (a)

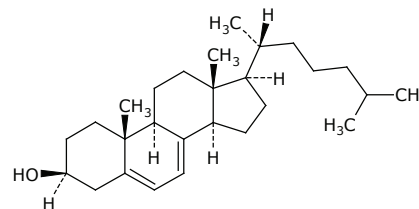
**Penyimpanan**

Kedap udara, dilindungi dari cahaya dan simpan pada suhu 2°—8°C.

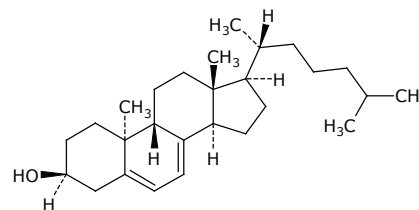
**Ketidakhurnian**



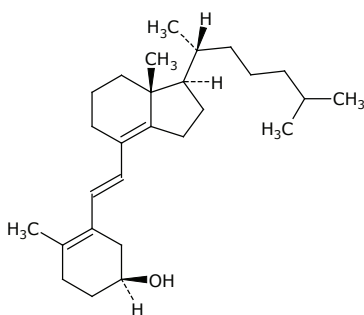
A. (5E,7E)-9,10-secokolesta-5,7,10(19)-trien-3b-ol (trans-kolekalsiferol, trans-vitamin D3).



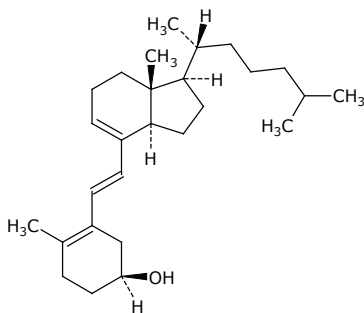
B. Kolesta-5,7-dien-3b-ol (7,8-didehidrokolesterol, provitamin D3).



C. 9b,10a-kolesta-5,7-dien-3b-ol (lumisterol 3).



- D. (6E)-9,10-secokolesta-5(10),6,8(14)-trien-3b-ol (iso-takisterol 3).



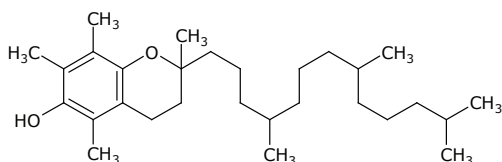
- E. (6E)-9,10-secokolesta-5(10),6,8-trien-3b-ol (takisterol 3).

### Khasiat

Penanganan kekurangan vitamin D.

## Vitamin E

### *α-Tocopherol*



$C_{29}H_{50}O_2$

BM: 430,7

[59-02-9]

### Definisi

All-rac-2,5,7,8-tetrametil-2-(4,8,12-trimetil tridesil)-3,4-dihidro-2H-1-benzopiran-6-ol.

Mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 102,0%.

### Karakteristik

**Pemerian.** Minyak kental, jernih, tidak berwarna atau coklat kekuningan.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam aseton, etanol anhidrat, metilen klorida dan minyak.

### Identifikasi

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: A, C.

A. Rotasi jenis  $-0,01^\circ$  sampai  $+0,01^\circ$ . Larutkan dan encerkan 2,5 g dalam etanol anhidrat sampai batas volume 25,0 ml.

B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar  $\alpha$ -tokoferol.

C. Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan 10 mg zat uji dalam 2 ml sikloheksan.

**Larutan standar.** Larutkan 10 mg standar  $\alpha$ -tokoferol dalam 2 ml sikloheksan.

**Lempeng.** Silika gel F<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur eter dan sikloheksan (20:80 v/v).

Totolkan secara terpisah 10  $\mu$ l dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak utama pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji sesuai pada tempat dan ukuran terhadap bercak utama yang diperoleh dengan larutan standar.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi gas, menggunakan:

**Larutan standar internal.** Larutkan dan encerkan 1,0 g skualen dalam sikloheksan sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan uji (a).** Larutkan dan encerkan 0,1 zat uji dalam larutan standar internal sampai volume 10,0 ml.

**Larutan uji (b).** Larutkan 0,1 g zat uji dalam 10 ml sikloheksan.

**Larutan standar (a).** Larutkan 0,1 standar  $\alpha$ -tokoferol dalam 10,0 ml larutan standar internal.

**Larutan standar (b).** Larutkan dan encerkan 10 mg zat uji dan 10 mg  $\alpha$ -tokoferil asetat dalam sikloheksan sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan standar (c).** Larutkan dan encerkan 10 mg standar all-rac- $\alpha$ -tokoferol untuk identifikasi (ketidakh murnian A dan B) dalam sikloheksan sampai volume 1 ml.

**Larutan standar (d).** Encerkan 1,0 ml larutan uji (b) dengan sikloheksan sampai batas volume 100,0 ml. Encerkan 1,0 ml larutan dengan sikloheksan sampai volume 10,0 ml.

**Kolom.** Silika polidimetilsiloksan (0,25  $\mu$ m), ukuran 30 m x 0,25 mm atau yang sesuai, suhu kolom 280°C, suhu injektor 290°C.

**Gas pembawa.** Helium.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Perbandingan pemisahan.** 1:100.

**Detektor.** Flame Ionisation Detector (FID), suhu detektor 290°C.

**Injek.** 1  $\mu$ l larutan uji (b) dan larutan standar (b), (c) dan (d).

**Waktu uji.** 2 kali waktu tambat all-rac- $\alpha$ -tokoferol.

**Identifikasi ketidakh murnian.** Gunakan kromatogram standar all-rac- $\alpha$ -tokoferol untuk identifikasi puncak dan pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan standar (c) untuk indentifikasi puncak ketidakh murnian A dan B.



**Waktu tambat relatif.** Standar all-rac- $\alpha$ -tokoferol sekitar 13 menit, skualen sekitar 0,5, ketidakmurnian A sekitar 0,7, ketidakmurnian B sekitar 0,8, ketidakmurnian C dan D sekitar 1,05 (setelah puncak all-rac- $\alpha$ -tokoferol terelusi).

**Kesesuaian sistem larutan standar (b).** Resolusi tidak kurang dari 3,5 antara puncak all-rac- $\alpha$ -tokoferol dan  $\alpha$ -tokoferil asetat.

**Batas**

**Ketidakhurnian A.** Tidak lebih dari 0,5%.

**Jumlah ketidakhurnian C dan D.** Tidak lebih dari 1,0%.

**Ketidakhurnian lain.** Untuk setiap ketidakhurnian, tidak lebih dari 0,25%.

**Total.** Tidak lebih dari 2,5%.

**Abaikan batas.** Area puncak utama pada kromatogram yang diperoleh larutan standar (d) (0,1%).

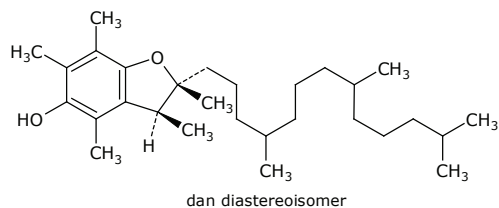
**Penetapan kadar**

Lakukan dengan metode kromatografi gas seperti dalam uji Senyawa Sejenis, menggunakan larutan uji (a) dan standar (a).

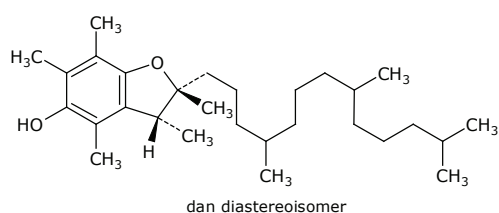
**Penyimpanan**

Dilindungi dari cahaya.

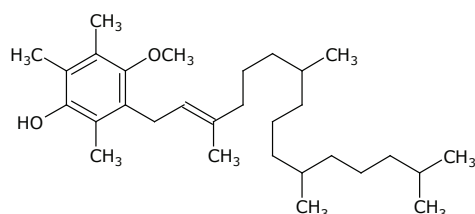
**Ketidakhurnian**



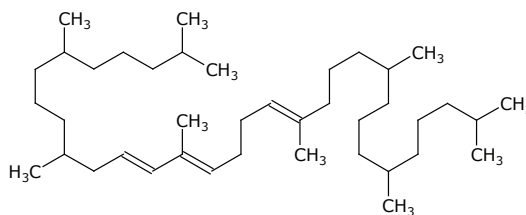
A. All-rac-trans-2,3,4,6,7-pentametil-2-(4,8,12-trimetiltridesil)-2,3-dihydrobenzofuran-5-ol.



B. All-rac-cis-2,3,4,6,7-pentametil-2-(4,8,12-trimetiltridesil)-2,3-dihydrobenzofuran-5-ol.



C. 4-metoksi-2,3,6-trimetil-5-[(all-RS,E)-3,7,11,15-tetrametilheksadek-2-enil]fenol.

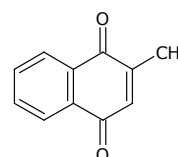


D. (All-RS,all-E)-2,6,10,14,19,23,27,31-oktametil-dotriakonta-12,14,18-triena.

**Khasiat**

Penanganan kekurangan vitamin E.

**Vitamin K**  
*Menadione*



C<sub>11</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>

BM : 172,18

[58-27-5]

**Definisi**

Menadion mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% dari 2-metilnaftalen-1,4-dion, dihitung dengan standar terhadap zat kering.

**Karakteristik**

**Pemerian.** Serbuk kristal kuning pucat.

**Kelarutan.** Praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam toluen, agak sukar larut dalam alkohol dan metanol, larut dalam benzen dan minyak nabati.

**Identifikasi**

Identifikasi pertama: A, B.

Identifikasi kedua: A, C dan D.

A. Suhu lebur 105°—108°C

B. Spektrum serapan inframerah sesuai dengan spektrum serapan standar menadion.

C. Larutkan 1 mg dalam 5 ml alkohol, tambah 2 ml amonia dan 0,2 ml etilsianoasetat. Terbentuk warna violet. Tambah 2 ml asam hidroklorida. Warna larutan hilang.

D. Larutkan 10 mg dalam 1 ml alkohol, tambah 1 ml asam hidroklorida dan panaskan di atas penangas air. Terbentuk warna merah.

**Senyawa sejenis.** Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, menggunakan:

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 1 volume nitrometan, 2 volume aseton, 5 volume etilen klorida dan 90 volume sikloheksan.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 0,2 g dalam aseton sampai volume 10,0 ml.

**Larutan standar.** Encerkan larutan uji dengan aseton sampai batas volume 100,0 ml.

Totolkan 5 µl secara terpisah pada lempeng dari setiap larutan. Angkat lempeng dan keringkan dengan aliran udara panas. Ulangi proses pengembangan dan pengeringan 2 kali. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Bercak lain pada kromatogram yang diperoleh dengan larutan uji merupakan bagian dari bercak utama, tidak lebih kuat intensitasnya dibandingkan dengan bercak yang diperoleh dengan larutan standar (0,5%).

**Susut pengeringan.** Tidak lebih dari 0,5%. Pada pengeringan di atas fosfor pentoksida dengan tekanan 2–3 kPa selama 4 jam. Gunakan 1 g.

**Abu sulfat.** Tidak lebih dari 0,1%. Gunakan 1g.

#### Penetapan kadar

Larutkan 0,15 g dalam 15 ml asam asetat glasial, tambah 15 ml asam hidroklorida encer, dan 1 g serbuk seng. Biarkan selama 60 menit (lindungi dari cahaya) sambil di aduk. Saring, bilas 3 kali masing-masing dengan 10 ml air bebas karbondioksida dan tambah 0,1 ml feroin. Titrasi dengan amonium serium nitrat 0,1 M. Setiap ml amonium serium nitrat setara dengan 8,61 mg C<sub>11</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>.

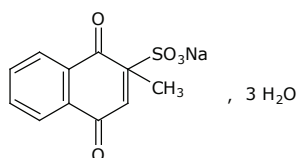
#### Penyimpanan

Dalam wadah tertutup baik, dilindungi dari cahaya.

#### Khasiat

Antihemoragi sumber vitamin K.

### Vitamin K<sub>3</sub> Menadione Sodium Bisulphite



C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>NaO<sub>5</sub>S · 3H<sub>2</sub>O      BM : 330,28      [130-37-0]

#### Definisi

Vitamin K<sub>3</sub> adalah campuran yang terdiri dari menadion natrium bisulfit dan natrium bisulfit. Mengandung tidak kurang dari 63,0% dan tidak lebih dari 75,0% menadion natrium bisulfit, dan tidak kurang dari 30,0% dan tidak lebih dari 38,0% natrium bisulfit.

#### Karakteristik

**Pemerian.** Serbuk kristal putih, higroskopik.

**Kelarutan.** Mudah larut dalam air, sangat sukar larut dalam etanol (95%), kloroform dan eter, praktis tidak larut dalam benzen.

#### Identifikasi

A. Larutkan 100 mg dalam 10 ml air, tambah 3 ml larutan natrium karbonat monohidrat (1 dalam 10).

Ekstrak endapan 2 kali masing-masing dengan 5 ml kloroform. Saring lapisan kloroform dan uapkan hasil saringan sampai kering. Larutkan residu dalam beberapa ml etanol (95%), uapkan sampai kering. Suhu lebur 104°–107°C.

- B. Pada 50 mg endapan yang diperoleh pada identifikasi A. Tambah 5 ml air dan 75 mg natrium bisulfit, panaskan di atas penangas air, kocok sampai larut dan larutan hampir tidak berwarna. Encerkan dengan air sampai batas volume 50 ml dan aduk. Pada 2 ml, tambah 2 ml campuran etanol (95%) dan amonium hidroksida dengan volume yang sama, kocok. Tambah 3 tetes etil sianasetat, terbentuk warna biru keunguan. Tambah 1 ml natrium hidroksida 33,3% b/v. Terbentuk warna kuning.
- C. Pada 2 ml larutan 4% b/v, tambah beberapa tetes asam hidroklorida encer, hangatkan, tercium bau sulfurdioksida.

**Natrium bisulfit.** Larutkan dan encerkan 2 g dengan air sampai batas volume 100 ml. Pada 15 ml, tambah 25 ml iodium 0,1 M, sumbat, aduk, diamkan selama 5 menit. Tambah 1 ml asam hidroklorida, titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 M, menggunakan larutan kanji sebagai indikator. Lakukan titrasi blanko. Setiap ml iodium 1 M setara dengan 5,203 mg NaHSO<sub>3</sub>.

**Selenium.** Tidak lebih dari 3 ppm.

**Air.** 9%–13%.

#### Penetapan kadar

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 50 mg standar menadion dengan kloroform sampai batas volume 250 ml, aduk. Pada 2 ml, encerkan dengan etanol absolut sampai konsentrasi 4 g/ml.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan 1 g dengan air sampai batas volume 200 ml. Pada 20 ml, tambah 40 ml kloroform dan 5 ml larutan natrium karbonat monohidrat (1 dalam 10), kocok selama 30 detik, biarkan terpisah. Saring fase kloroform melalui kapas. Bilas penyaring dengan 40 ml kloroform. Campur bilasan ke dalam ekstrak hasil saringan. Ekstrak fase air 2 kali, masing-masing dengan 20 ml kloroform, saring, bilas penyaring dengan 20 ml kloroform. Campur hasil saringan dan cairan bilasan ke dalam ekstrak. Encerkan dengan kloroform sampai batas volume 200 ml, aduk. Pada 2 ml, encerkan dengan etanol (95%) sampai batas volume 100 ml, aduk.

Ukur serapan pada panjang gelombang 250 nm terhadap blanko 1 volume kloroform dalam 50 volume etanol absolut.

Hitung jumlah dalam mg C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>NaO<sub>5</sub>S·3H<sub>2</sub>O, dengan rumus:

$$\left(\frac{330,08}{172,18}\right) \times 100 \left(C \times \left(\frac{A_S}{A_{Std}}\right)\right)$$

C = kadar menadion bisulfit (mg/ml)

A<sub>S</sub> = serapan larutan uji

A<sub>Std</sub> = serapan larutan standar

**Penyimpanan**

Dilindung dari cahaya.

**Khasiat**

Antihemoragi, sumber vitamin K.

## Mineral Serbuk Oral

**Definisi**

Mineral serbuk oral mengandung dua atau lebih mineral dilengkapi dengan satu atau lebih unsur-unsur berikut dalam ionisasi: kalsium, kromium, tembaga, fluorin, iodium, besi, magnesium, mangan, molibdenum, fosfor, kalium, selenium, dan seng serta dapat mengandung zat lain yang tertera dalam etiket dengan jumlah yang akurat.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 80,0% untuk kalsium (Ca), tembaga (Cu), besi (Fe), magnesium (Mg), mangan (Mn), fosfor (P), kalium (K), dan seng (Zn); kromium (Cr), fluorin (F), iodium (I), molibdenum (Mo), dan selenium (Se), dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

Lakukan dengan cara seperti yang tertera pada penetapan kadar.

**Penetapan kadar****Besi**

Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan:

**Larutan stok standar besi.** Pada 100 mg standar besi larutkan dalam 25 ml asam hidroklorida 6 M, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml dan aduk.

**Larutan standar.** Encerkan 2,0; 4,0; 5,0; 6,0 dan 8,0 ml larutan stok standar besi dengan air sampai konsentrasi 2,0; 4,0; 5,0; 6,0 dan 8,0 µg/ml.

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam pengujian kalsium, kecuali untuk persiapan larutan uji mengandung 5 µg/ml dan hilangkan penggunaan larutan lantanum klorida.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus:

$$0,001 CD$$

Keterangan:

D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji.

**Fluorida**

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode volt-meter, menggunakan:

**Larutan natrium asetat 3 M.** Larutkan 408 g natrium asetat dalam 600 ml air labu -1000 ml.

Biarkan larutan sampai ekuilibrium tercapai pada suhu ruang, encerkan dengan air sampai volume 1000 ml dan aduk. Atur pH 7,0 dengan asam asetat 7.

**Larutan natrium sitrat.** Larutkan 222 g natrium sitrat dalam 250 ml air, tambahkan 28 ml asam perklorat dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml dan aduk.

**Larutan stok standar fluorida.** Pindahkan 1,105 g standar natrium fluoride (sebelumnya dikeringkan pada suhu 100°C selama 4 jam dan dinginkan dalam desikator), ke dalam labu - 1000 ml. Larutkan dan encerkan dengan air sampai konsentrasi 500 µg/ml.

**Larutan stok intermediate (1).** Pipet 20 ml larutan stok standar fluorida ke dalam labu -100 ml, encerkan dengan air sampai konsentrasi 100 µg/ml.

**Larutan stok intermediate (2).** Pipet 20 ml larutan stok standar fluorida ke dalam labu -100 ml, encerkan dengan air sampai konsentrasi 10 µg/ml.

**Larutan standar.** Pada lima labu - 100 ml yang terpisah, pindahkan 3,0; 5,0 dan 10,0 ml larutan stok intermediate-2 serta 5,0 dan 10,0 ml larutan stok intermediate-1. Untuk setiap labu, tambah 10 ml asam hidroklorida 1 M, 25 ml larutan natrium asetat 3 M dan 25 ml larutan natrium sitrat. Encerkan isi setiap labu dengan air sampai konsentrasi 0,3; 0,5; 1,0; 5,0 dan 10,0 µg/ml.

**Larutan uji.** Pindahkan sediaan setara dengan 200 µg fluorida, ke dalam labu -100 ml. Larutkan dalam 10 ml asam hidroklorida 1 M, 25 ml larutan natrium asetat 3 M, dan 25 ml larutan natrium sitrat, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Prosedur.** Pada 50 ml larutan standar dan larutan uji pada gelas piala plastik terpisah.

Ukur potential (lihat pH), dalam mV, larutan standar dan larutan uji, dengan pH meter mampu reproduibilitas minimum ±0,2 mV dan lengkapi dengan electrode spesifik untuk ion fluorida serta elektroda standar kalomel. [ketika pengukuran dilakukan, benamkan elektroda dalam larutan yang diaduk dengan magnetic stirrer selama 1—2 menit], dan catat potensial. Bilas dan keringkan elektroda antara pengukuran secara hati-hati untuk menghindari merusakkan kristal elektroda ion-spesifik]. Buat kurva respon standar dalam µg/ml dengan potensial dalam mV. Hitung konsentrasi, C (µg/ml), dari fluorida dalam larutan uji. Hitung kadar dari fluorida (mg) pada sediaan menggunakan rumus:

$$0,1 C$$

2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Dapar pH 10.** Tambahkan 214 ml natrium hidroksida 0,1 M ke dalam 1000 ml natrium bikarbonat 0,05 M.

**Fase gerak.** Campuran air, alkohol dan asam sulfat 0,1 M(175:20:5). Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan standar natrium fluorida dalam air sampai konsentrasi fluorida 100 µg/ml.

**Larutan standar.** [Kondisikan kolom ekstraksi fasa-padat (*solid phase extraction*) dengan tekanan tidak lebih dari 5 mm air raksa: bilas kolom dengan metanol kemudian dengan dapar pH 10. Jangan biarkan puncak kolom kering] Pindahkan 10 ml larutan stok standar ke dalam labu-100 ml. Tambah 75 ml air, atur pH 10,4 ±0,1 dengan natrium hidroksida 0,1M. Encerkan dengan air sampai batas volume 100 mldan aduk. Saring, buang 15 ml hasil saringan pertama. Pindahkan 25 ml hasil saringan ke dalam labu-50 ml, tambah 15 m air atur pH 10,0 dengan natrium hidroksida 0,1M. Encerkan dengan dapar pH 10 sampai volume 50 ml dan aduk. Elusikan sebagian larutan melalui kolom ekstraksi fasa-padat 3 ml berisi oktadesilsilil yang dihubungkan melalui satu adaptor ke kolom ekstraksi fasa-padat kedua berisi penukar ion sulfonil propil. Buang 3 ml eluat pertama, dan kumpulan sisa eluat vial untuk injeksi ke kromatografi.

**Larutan uji.** Pindahkan sediaan setara dengan 1 mg fluorida ke labu pisah-100 ml, tambah 15 ml air dan aduk. Bilas sisi botol dengan 15 ml air dan biarkan selama 10 menit. Encerkan dengan air sekitar 85 ml, atur pH 10,4 ±0,1 dengan natrium hidroksida 1 M, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml dan aduk. Lakukan seperti dalam larutan standar, dimulai dengan ".....saring buang 15 ml hasil saringan pertama."

**Kolom pelindung.** Resin penukar ion dari stiren divinil benzen sulfonat, ukuran 3 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Kolom analitik.** Resin penukar ion dari stiren divinil benzen sulfonat, ukuran 30 cm x 7,8 mm.

**Laju alir.** 0,5 ml/menit.

**Detektor.** Konduktivitas.

Injek larutan standar, simpangan baku relatif tidak lebih dari 2%.

Injek 100 µl larutan standar dan larutan uji ke dalam kromatograf dan ukur area puncak. Hitung kadar (mg) dengan rumus:

$$0,2 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi fluorin dalam larutan standar (µg/ml)

A<sub>S</sub> = area puncak larutan uji.

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar.

### Fosfor

Lakukan dengan metode spektrofotometri, menggunakan:

**Larutan asam sulfat.** Tambahkan 37,5 ml asam sulfat ke dalam 100 ml air dan aduk.

**Larutan standar amonium molibdat.** Larutkan standar 12,5 g amonium molibdat dalam 150 ml air. Tambah 100 ml larutan asam sulfat dan aduk.

**Larutan hidrokuinon.** Larutkan 0,5 g hidrokuinon dalam 100 ml air dan tambahkan satu tetes asam sulfat.

**Larutan natrium bisulfit.** Larutkan 20 g natrium bisulfit dalam 100 ml air.

**Larutan stok standar fosfor.** Larutkan 4,395 g kalium fosfat monobasa (sebelumnya ikingkan pada suhu 105°C selama 2 jam dan simpan dalam desikator) dalam air, tambah 6 ml asam sulfat sebagai pengawet, encerkan dengan air sampai konsentrasi 1000 µg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan stok standar dalam air sampai konsentrasi konsentrasi 20 µg/ml.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara 100 mg fosfor, tambah 25 ml asam nitrat, panaskan diatas plat panas selama 30 menit. Tambah 15 ml asam hidroklorida, dan lanjutkan pemanasan sampai larutan jernih. Dinginkan dan pindahkan isi ke dalam labu- 500 ml dengan bantuan air. Encerkan dengan air sampai batas volume 500 ml dan aduk. Encerkan 10 ml larutan dengan air sampai batas volume 100-ml dan aduk.

Hitung kadar (µg) dari fosfor pada tablet menggunakan rumus:

$$5 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi molibdenum dalam larutan standar (µg/ml)

A<sub>S</sub> = area puncak larutan uji.

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar.

### Iodium

Lakukan penetapan kadar dengan metode titrasi, menggunakan:

**Air brom.** Pada 20 ml brom dalam botol, tambah 100 ml air. Sumbat botol dan kocok. Biarkan selama 30 menit, dan gunakan supernatan.

**Prosedur.** Pindahkan sediaan setara 3 mg iodid, ke dalam krusibel nikel. Tambah 5 g natrium karbonat, 5 ml larutan natrium hidroksida (50% b/v) dan 10 ml alkohol, Panaskan krusibel di atas penangas air untuk menguapkan alkohol, kemudian kering kan crucible pada suhu 100°C selama 30 menit. Pindahkan krusibel dengan isinya ke dalam tungku perapian dan panaskan dengan suhu 500°C selama 15 menit. [Pemanasan di atas suhu 500°C mungkin diperlukan untuk memastikan perubahan menjadi karbondioksida sempurna dari semua bahan organik]. Dinginkan krusibel, tambahkan 25 ml air, tutup krusibel dengan gelas arlojidan didihkan dengan pelahan-lahan selama 10 menit. Saring dan bilas krusibel dengan air mendidih, kumpulkan hasil-saringan dan air bilasan dalam gelas piala. Tambahkan asam fosfat sampai larutan netral terhadap metil jingga, kemudian tambahkan 1 ml asam fosfat. Tambahkan air brom berlebih dan didihkan larutan sampai tidak berwarna. Tambahkan beberapa kristal asam salisilat, dan dinginkan larutan sampai

suhu 20°C. Tambah 1 ml asam fosfat dan 0,5 g kalium iodida, Titrasi iodium bebas menggunakan natrium tiosulfat 0,005 M, dan larutan kanji sebagai indikator sampai tidak berwarna. Hitung kadar ( $\mu\text{g}$ ), iodid pada tablet menggunakan rumus:

$$\frac{105.8VN}{0,005}$$

Keterangan:

V = volume (ml), dari natrium tiosulfat;

M = molaritas natrium tiosulfat.

### Kalium

Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan:

**Larutan stok standar kalium.** Larutkan dan encerkan 190,7 mg kalium klorida (sebelumnya dikeringkan pada suhu 105°C selama 2 jam) dengan air sampai konsentrasi 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

**Larutan standar.** Encerkan larutan stok standar kalium dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Pindahkan masing-masing 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 dan 25,0 ml larutan standar pada labu-100 ml yang terpisah. Encerkan dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam pengujian kalsium, kecuali untuk persiapan larutan uji mengandung 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  dan hilangkan penggunaan larutan lantanum klorida.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus:

$$0,001 CD$$

Keterangan:

D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji.

### Kalsium

Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan:

**Larutan lantanum klorida.** Larutkan 26,7 g lantanum klorida heptahidrat dalam asam hidroklorida 0,125 M sampai volume 100 ml.

**Larutan stok standar kalsium.** Pada 1,001 g kalsium karbonat (sebelumnya dikeringkan pada suhu 300°C selama 3 jam dan dinginkan dalam desikator selama 2 jam), larutkan dalam 25 ml asam hidroklorida 1 M. Dididihkan untuk menghilangkan karbon dioksida, encerkan dalam air sampai konsentrasi kalsium 400  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

**Larutan standar.** Encerkan larutan stok standar kalsium dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi kalsium 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Pindahkan masing-masing 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 dan 3,0 ml larutan standar. Tambah 1 ml larutan lantanum klorida, encerkan dengan air sampai konsentrasi kalsium 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 dan 3,0  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

**Larutan uji.** Pindahkan sediaan setara dengan 5 tablet

ke dalam krusibel porselin. Panaskan pada 550°C selama 6—12 jam dan dinginkan. Tambah 60 ml asam hidroklorida dan dididihkan di atas penangas air selama 30 menit sambil di bilas permukaan bagian dalam krusibel dengan asam hidroklorida 6 M. Dinginkan, dan pindahkan ke dalam labu 100 ml. Bilas krusibel dengan sedikit asam hidroklorida 6 M dan masukkan hasil bilasan ke dalam labu. Encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml, aduk, dan saring, buang 5 ml hasil saringan pertama. Encerkan larutan dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 2  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , tambah 1 ml larutan lantanum klorida setiap 100 ml volume akhir.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus:

$$0,001 CD$$

Keterangan:

D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji.

### Kromium

Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan:

**Larutan stok standar kromium.** Larutkan dan encerkan 2,829 g kalium dikromat (sebelumnya dikeringkan pada suhu 120°C selama 4 jam), larutkan dan encerkan dengan air sampai konsentrasi kromium 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Simpan dalam botol politilen.

**Larutan standar.** Pada 10 ml larutan stok standar kromium, tambah 50 ml asam hidroklorida 6 M, encerkan dengan air sampai konsentrasi 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Pindahkan 10 ml dan 20 ml larutan standar ke dalam labu 100 ml terpisah, dan pindahkan 15 ml dan 20 ml larutan standar ke dalam labu 50 ml terpisah. Encerkan empat labu terbut dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 1,0; 2,0; 3,0 dan 4,0  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam pengujian kalsium, kecuali untuk persiapan larutan uji mengandung 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  dan hilangkan penggunaan larutan lantanum klorida.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus:

$$CD$$

Keterangan:

D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji.

### Magnesium

Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan:

**Larutan lantanum klorida.** Siapkan seperti dalam pengujian kalsium.

**Larutan stok standar magnesium.** Larutkan 1 g magnesium dalam 50 ml asam hidroklorida 6 M, encerkan dengan air sampai konsentrasi 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

**Larutan standar.** Encerkan stok standar magnesium dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Pindahkan 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 dan 3,0 ml larutan standar ke dalam labu -100 ml yang terpisah. Tambah

1 ml larutan lantanum klorida dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 dan 0,6 µg/ml.

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam pengujian kalsium, kecuali untuk persiapan larutan uji mengandung 0,4 µg/ml.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus:

$$0,001 CD$$

Keterangan:

D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji.

### Mangan

Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan:

**Larutan stok standar mangan.** Larutkan 1 g mangan dalam 20 ml asam nitrat, encerkan dengan asam hidroklorida 6 M sampai konsentrasi 1000 µg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan 10 ml larutan stok standar mangan dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 50 µg/ml. Pindahkan 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 dan 4,0 ml larutan standar ke dalam labu terpisah dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 0,5; 0,75; 1,0; 1,5 dan 2,0 µg/ml.

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam pengujian kalsium, kecuali untuk persiapan larutan uji mengandung 1 µg/ml dan hilangkan penggunaan larutan lantanum klorida.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus:

$$0,001 CD$$

Keterangan:

D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji.

### Molibdenum

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom menggunakan:

**Larutan pengencer.** Larutkan 40 g dari amonium klorida dalam 2000 ml air.

Larutan stok standar molibdenum: Larutkan 1 g molibdenum dalam 50 ml asam nitrat. Encerkan dengan air sampai konsentrasi 1000 µg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan 10 ml larutan stok standar molibdenum dengan air sampai konsentrasi 100 µg/ml. Pindahkan 2,0; 10,0 dan 25,0 ml larutan ke dalam labu terpisah, tambah 5 ml asam perklorat. Didihkan selama 15 menit, dinginkan pada suhu ruang, encerkan dengan larutan pengencer sampai konsentrasi 5,0; 10,0 dan 25,0 µg/ml.

**Larutan uji.** Larutkan sediaan setara 1000 µg molibdenum dalam 12 ml asam nitrat. Secara hati-hati aduk botol dan sonikasi selama 10 menit atau sampai larut. Didihkan larutan selama 15 menit dan dinginkan pada suhu ruang. Secara hati-hati

tambahkan 8 ml asam perklorat, panaskan sampai asam perklorat tampak menguap, aduk botol untuk mengusir uap. Ulangi pemanasan dan aduk. Dinginkan pada suhu ruang. Pindahkan isi botol ke dalam labu -100 ml dengan bantuan larutan pengencer, encerkan dengan larutan pengencer sampai batas volume 100,0 ml dan aduk.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus:

$$0,001 CD$$

Keterangan:

D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji.

- Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan natrium fluorida.** Larutkan 10 g natrium fluorida dalam 200 ml air, aduk dan saring. Simpan dalam tabung polietilen.

**Larutan besi sulfat.** Larutkan dan encerkan 498 mg besi sulfat dalam air sampai batas volume 100 ml.

**Larutan kalium tiosianat.** Larutkan dan encerkan 20 g kalium tiosianat dalam air sampai batas volume 100 ml.

**Larutan timah (II) klorida 20%.** Pada 40 g timah (II) klorida tambahkan 20 ml asam hidroklorida 6,5 M. Panaskan sampai larut. Dinginkan dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Larutan timah (II) klorida encer.** Encerkan 4 ml larutan timah (II) klorida 20% dengan air sampai batas volume 100 ml. Larutan harus segar.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 92 mg amonium molibdat dengan air sampai batas volume 500 ml, aduk. Encerkan 20 ml dengan air sampai konsentrasi 20 µg/ml.

**Prosedur.** Pindahkan sediaan setara 40 µg molibdenum, ke dalam gelas piala -200 ml (I). Pindahkan 2 ml larutan standar ke dalam gelas piala- 200 ml (II). Tambah 20 ml asam nitrat. Tutup dengan gelas arloji, dan didihkan secara perlahan di atas plat panas selama 45 menit. Dinginkan pada suhu ruang, tambahkan 6 ml asam perklorat, tutup dengan gelas arloji dan lanjutkan pemanasan sampai larut sempurna yang ditunjukkan saat cairan tidak berwarna atau kekuningan. Jika diperlukan, tambahkan asam nitrat dan asam perklorat ke dalam gelas (I). Uapkan sampai kering. Bilas sisi gelas dan gelas arloji dengan air, dan tambahkan lebih banyak air sampai volume 50 ml. Didihkan selama beberapa menit dan dinginkan pada suhu ruang. Tambah 2 tetes metil jingga ke dalam gelas piala, dan netralkan dengan amonium hidroksida. Tambah 8,2 ml asam hidroklorida. Pindahkan isi gelas piala pada labu-100 ml yang terpisah. Bilas gelas dengan air, pindahkan hasil bilasan ke dalam masing-masing labu, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml dan aduk.

Pindahkan 50 ml setiap larutan dari gelas piala (I) dan (II) ke dalam labu pisah. Tambah 1 ml larutan natrium fluorida, 0,5 ml larutan besi sulfat, 4,0 ml larutan kalium tiosianat, 1,5 ml larutan timah (II) klorida 20% dan 15 ml amil alkohol dan aduk selama 1 menit. Biarkan sampai lapisan terpisah dan buang lapisan yang mengandung air. Tambahkan 25 ml timah (II) klorida encer ke dalam dan aduk selama 15 detik. Biarkan lapisan terpisah dan buang lapisan yang mengandung air.

Pindahkan fase organik ke dalam tabung sentrifus yang terpisah dan sentrifus 2000 rpm selama 10 menit.

Ukur serapan pada panjang gelombang 465 nm, gunakan amil alkohol sebagai blanko.

Hitung kadar ( $\mu\text{g}$ ) dari molibdenum (Mo) pada tablet menggunakan rumus:

$$2 C \left( \frac{A_s}{A_{std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi molibdenum dalam larutan standar ( $\mu\text{g/ml}$ )

$A_s$  = area puncak larutan uji.

$A_{std}$  = area puncak larutan standar.

### Selenium

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom menggunakan:

**Larutan pengencer.** Siapkan seperti dalam pengujian molibdenum, metode 1.

**Larutan stok standar selenium.** [Perhatian: selenium adalah beracun; tangani dengan hati-hati.] Larutkan 1 g selenium dalam volume minimum asam nitrat. Uapkan hingga kering, tambah 2 ml air dan uapkan hingga kering. Ulangi proses 3 kali. Larutkan residu dalam asam hidroklorida 3 M, pindahkan ke dalam labu 1000 ml, encerkan dengan asam hidroklorida 3 M sampai konsentrasi 1000  $\mu\text{g/ml}$ .

**Larutan standar.** Encerkan 10 ml larutan stok standar selenium dengan air konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$ . Pindahkan 5,0; 10,0 dan 25,0 ml larutan standar pada labu-100 ml yang terpisah dan tambah 5 ml asam perklorat. Didihkan larutan selama 15 menit, dinginkan pada suhu ruang, encerkan dengan air sampai konsentrasi 5,0; 10,0 dan 25,0  $\mu\text{g/ml}$ .

**Larutan uji.** Pada sediaan, setara dengan 1000  $\mu\text{g}$  selenium, tambah 12 ml asam nitrat. Secara hati-hati aduk botol dan sonikasi selama 10 menit atau sampai larut. Didihkan larutan selama 15 menit dan dinginkan pada suhu ruang. Secara hati-hati tambahkan 8 ml asam perklorat, panaskan botol sampai terlihat asap dan aduk. Ulangi pemanasan dan aduk sampai larutan jernih. Dinginkan pada suhu ruang. Pindahkan ke dalam labu- 50 ml dengan bantuan larutan pengencer dan encerkan

dengan larutan pengencer sampai volue 50 ml dan aduk.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus:

$$0,001 CD$$

Keterangan:

D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji.

2. Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Asam hidroklorida.** Encerkan 50 ml asam hidroklorida dengan air sampai batas volume 500 ml dan aduk.

**Larutan amonium hidroksida 50%.** Encerkan 250 ml amonium hidroksida dengan air sampai batas volume 500 ml dan aduk.

**Pereaksi-1.** Larutkan 4,5 g dinatrium edetat dalam 400 ml air, tambah 12,5 g hidrosilamin hidroklorida, encerkan dengan air sampai bats volume 500 ml dan aduk.

**Pereaksi-2.** Pada 200 mg 2,3-diaminonaftalen tambah 200 ml asam hidroklorida 0,1 M. Ekstraksi 3 kali, masing-masing 40 ml sikloheksan dan buang lapisan sikloheksan. Saring larutan ke dalam botol coklat dan tutup larutan dengan lapisan 1-cm sikloheksan. Larutan ini stabil selama 1 minggu jika disimpan dalam lemari pendingin.

**Larutan stok standar.** [Perhatian-selenium adalah beracun; tangani dengan hati-hati]. Larutkan 1 g selenium dalam volume minimum asam nitrat. Uapkan hingga kering, tambahkan 2 ml air, dan uapkan hingga kering. Ulangi prose ini tiga kali. Larutkan residu dalam asam hidroklorida 3 M, pindahkan ke dalam labu-1000 ml, encerkan dengan asam hidroklorida 3 M sampai konsentrasi 1000  $\mu\text{g/ml}$ . Encerkan larutan dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 2,0  $\mu\text{g/ml}$ .

**Larutan uji.** Pada sediaan setara 20  $\mu\text{g}$  selenium, tambah 10 ml asam nitrat, dan hangatkan di atas plat panas. Lanjutkan pemanasan sampai reaksi awal asam nitrat telah surut, kemudian tambahkan 3 ml asam perklorat. [Perhatian-hati-hati pada tahap karena reaksi asam perklorat bias kuat]. Lanjutkan pemanasan di atas plat panas sampai muncul uap. Tambah 0,5 ml asam nitrat dan panaskan kembali, tambah kembali sejumlah asam nitrat, larutan menjadi gelap. Panaskan selama 10 menit setelah muncul uap atau sampai larutan tidak berwarna. Dinginkan botol tambah 2,5 ml larutan asam hidroklorida dan panaskan diatas plat panas untuk mengeluarkan sisa asam nitrat. Panaskan campuran selama 3 menit setelah mulai mendidih. Dinginkan pada suhu ruang, dan encerkan dengan air sampai volume 20 ml.

**Prosedur.** Pada 10 ml larutan stok standar, tambah 1 ml asam perklorat dan 1 ml asam hidroklorida dan encerkan dengan air sampai volume 20 ml (larutan standar). Siapkan blanko dengan 1 ml

asam perklorat dan 1 ml larutan asam hidroklorida dan encerkan dengan air sampai volume 20 ml. Perlakukan larutan uji, larutan standar dan blanko sebagai berikut: Tambahkan 5 ml pereaksi-1, dan aduk, atur pH  $1,1 \pm 0,1$  dengan amonium hidroksida 50%. Tambah 5 ml pereaksi-2 dan aduk dengan. Tempatkan larutan diatas penangas air pada suhu  $50^{\circ}\text{C}$ , dan ekuilibrase selama 30 menit (lindungi dari cahaya). Dinginkan pada suhu ruang, dan pindahkan kedalam labu pan pada panjang gelombang pisah. Tambah 10 ml sikloheksan ke dalam setiap labu dan ekstrak selama 1 menit. Buang lapisan yang mengandung air. Sentrifus fase sikloheksan pada 1000 rpm selama 1 menit untuk sisa air.

Ukur serapan pada panjang gelombang 380 nm. Hitung kadar ( $\mu\text{g}$ ) dari selenium (Se) pada sediaan menggunakan rumus:

$$CD \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi selenium dalam larutan stok standar ( $\mu\text{g/ml}$ )

D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji

$A_s$  = area puncak larutan uji.

$A_{Std}$  = area puncak larutan standar.

### Seng

Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan:

**Larutan stok standar seng.** Pada 311 mg standar seng oksida tambah 80 ml asam hidroklorida 5 M, hangatkan jika diperlukan sampai larut. Dinginkan dan encerkan dengan air sampai konsentrasi 1000  $\mu\text{g/ml}$ .

**Larutan standar.** Encerkan larutan stok standar seng dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 50  $\mu\text{g/ml}$ . Pindahkan 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 dan 5,0 ml ke dalam labu – 100 ml terpisah. Encerkan dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5  $\mu\text{g/ml}$ .

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam pengujian kalsium, kecuali untuk persiapan larutan uji mengandung 2  $\mu\text{g/ml}$  dan hilangkan penggunaan larutan lantanum klorida.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus:

$$0,001 CD$$

Keterangan:

D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji.

### Tembaga

Lakukan penetapan kadar menggunakan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan:

**Larutan stok standar tembaga.** Larutkan 1 g kertas perak dalam volume kecil asam nitrat (50% v/v), dan encerkan dengan larutan asam nitrat (1% v/v) sampai

batas volume 1000 ml (1000  $\mu\text{g/ml}$ ).

**Larutan standar.** pada 10 ml larutan stok standar tembaga encerkan dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$ . Pada labu – 200 ml terpisah, pindahkan 1,0; 2,0; 4,0; 6,0 dan 8,0 ml larutan standar, encerkan dengan air sampai konsentrasi 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 dan 4,0  $\mu\text{g/ml}$ .

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam pengujian kalsium, kecuali untuk persiapan larutan uji mengandung 2  $\mu\text{g/ml}$  dan hilangkan penggunaan larutan lantanum klorida.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus:

$$0,001 CD$$

Keterangan:

D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji.

### Penyimpanan

Disimpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Vitamin Larut Air Kapsul

### Definisi

Vitamin larut air dalam sediaan kapsul adalah mengandung dua atau lebih vitamin larut air yaitu: Asam askorbat atau setara natrium askorbat atau kalsium askorbat, biotin, sianokobalamin, asam folat, niasin atau niasinamida, dekspantenol atau pantenol, asam pantotenat (sebagai kalsium pantotenat atau rasemik kalsium pantotenat), piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin hidroklorida atau tiamin mononitrat dan dapat mengandung zat lain yang tertera pada label dengan jumlah yang akurat.

Kapsul memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan kapsul dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang 80,0% dari jumlah yang tertera dalam etiket untuk asam askorbat ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ), biotin ( $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ ), sianokobalamin ( $\text{C}_{63}\text{H}_{88}\text{CoN}_{14}\text{O}_{14}\text{P}$ ), asam folat ( $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_7\text{O}_6$ ), dekspantenol ( $\text{C}_9\text{H}_{19}\text{NO}_4$ ) atau pantenol ( $\text{C}_9\text{H}_{19}\text{NO}_4$ ), kalsium pantotenat ( $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{CaN}_2\text{O}_{10}$ ), niasin ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$ ) atau niasinamida ( $\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$ ), piridoksin hidroklorida ( $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_3\text{HCl}$ ), riboflavin ( $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_6$ ), dan tiamin ( $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{OS}$ ) sebagai tiamin hidroklorida atau tiamin mononitrat.

### Identifikasi

Lakukan cara seperti yang tertera pada penetapan kadar.

**Waktu hancur dan disolusi.** Memenuhi persyaratan untuk waktu hancur.



**Keseragaman berat.** Memenuhi persyaratan.

**Catatan.** Dalam pengujian berikut, dimana lebih dari satu metode pengujian digunakan untuk zat aktif tunggal, persyaratan dipenuhi dengan salah satu metode yang telah ditentukan.

#### **Penetapan kadar**

##### **Asam askorbat, kalsium askorbat dan natrium askorbat**

Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).

##### **Asam folat**

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada penetapan kadar asam folat, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: lakukan seperti dalam penetapan kadar biotin. Metode 1, dimulai dengan pada sediaan setara 0,4 mg asam folat, tambah 25 ml larutan standar, sumpat, aduk selama 10 menit, dan sentrifus. Saring supernatan dan gunakan hasil saringannya.
2. Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada penetapan kadar asam folat metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: lakukan seperti dalam penetapan kadar biotin, Metode 2 dimulai dengan pada sediaan setara 0,3 mg asam folat, tambah 10 ml campuran metanol dan asam asetat glasial (9:1), 30 ml campuran metanol dan etilen glikol (1:1). Sumpat dan kocok selama 15 menit di dalam penangas air pada suhu 60°C, dan dinginkan. Saring dan buang beberapa ml hasil saringan pertama.

##### **Biotin**

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada penetapan kadar biotin, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: lakukan seperti dalam penetapan kadar biotin, metode 2 dimulai pada sediaan setara dengan 1 mg biotin, tambah 3 ml dimetilsulfoksida dan aduk. Panaskan dalam penangas air pada suhu 60°–70°C selama 5 menit. Kemudian sonikasi selama 5 menit, larutkan dengan air sampai batas volume 200 ml, aduk dan saring.
2. Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada penetapan kadar biotin, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: pada sediaan setara 100 µg dari biotin, tambah 3 ml alkohol 50%, dan aduk sampai homogen. Panaskan dalam penangas air pada suhu 60°–70°C selama 5 menit. Sonikasi selama 5 menit, encerkan dalam alkohol 50% sampai batas volume 200 ml, aduk dan saring. Encerkan dengan air sampai konsentrasi 0,1 mg/ml.

##### **Dekspantenol atau pantenol**

Lakukan dengan metode mikrobiologi, menggunakan: *(Catatan. Ikuti prosedur yang dapat diterapkan dalam menentukan komponen dekstrorotatori rasemik pantenol dalam sediaan pantenol).*

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan standar dekspantenol dengan air sampai konsentrasi 800 µg/ml. Simpan di dalam lemari pendingin, terlindung dari cahaya dan gunakan tidak lebih dari 30 hari.

**Larutan standar.** Pada saat penetapan kadar, encerkan larutan stok standar dengan air sampai konsentrasi 1,2 µg/ml.

**Larutan uji.** Larutkan sediaan setara 1,2 mg dekspantenol atau 2,4 mg pantenol dalam 100 ml air. Larutkan dengan air sampai konsentrasi 1,2 µg/ml dekspantenol atau 2,4 µg/ml pantenol.

**Larutan asam kasein hidrolisat.** Aduk 100 g vitamin bebas kasein dengan 500 ml asam hidroklorida 6 M, dan lakukan reflus selama 8-12 jam. Hilangkan asam hidroklorida dari larutan campuran dengan cara penyulingan, sampai terbentuk pasta. Larutkan kembali pasta dengan 500 ml air, atur pH 3,5 ± 0,1 dengan natrium hidroksida 1 M, dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml. Tambahkan 20 g arang aktif, aduk selama 1 jam, dan saring. Ulangi perlakuan dengan arang aktif. Simpan dalam toluen di lemari pendingin pada suhu tidak kurang dari 10°C. Jika terbentuk endapan selama penyimpanan, saring larutan.

**Larutan sistin-triptofan.** Suspensikan 4 g L-sistin dan 1 g L-triptofan (atau 2 g D,L-triptofan) dalam 700 ml air, panaskan sampai suhu 75°C, dan teteskan asam hidroklorida sampai larut. Dinginkan dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak kurang dari 10°C.

**Larutan urasil-adenin-guanin.** Larutkan 200 mg adenin sulfat, guanin hidroklorida, dan urasil dengan pemanasan, dalam 10 ml asam hidroklorida 4M, dinginkan, tambahkan air sampai batas volume 200 ml, dan aduk. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak kurang dari 10°C.

**Larutan polisorbit 80.** Larutkan 25 g polisorbit 80 dalam alkohol sampai 250 ml, dan aduk.

**Larutan riboflavin-tiamin hidroklorida-biotin.** Larutan riboflavin, tiamin hidroklorida, dan biotin dalam asam asetat 0,02 N yang mengandung 20 µg riboflavin, 10 µg tiamin hidroklorida, dan 0,04 µg biotin µg/ml. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak kurang dari 10°C, terlindung dari cahaya.

**Larutan asam p-aminobenzoat-niasin-piridoksin hidroklorida.** Larutan p-aminobenzoat, niasin dan piridoksin hidroklorida dalam alkohol murni 25% yang mengandung 10 µg asam p-aminobenzoat, 50 µg niasin, dan 40 µg piridoksin hidroklorida µg/ml. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak kurang dari 10°C.

**Larutan garam 1.** Larutkan 25 g kalium fosfat monobasik dan 25 g kalium fosfat dibasik dalam air sampai batas volume 500 ml. Tambahkan 5 tetes asam hidroklorida, dan aduk. Simpan botol dalam toluen

pada suhu tidak kurang dari 10°C.

**Larutan garam 2.** Larutkan 10 g magnesium sulfat, 0,5 g natrium klorida, 0,5 g besi sulfat, dan 0,5 g mangan sulfat dalam air sampai batas volume 500 ml. Tambahkan 5 tetes asam hidroklorida, aduk. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak kurang dari 10°C.

**Larutan piridoksal-kalsium pantotenat.** Larutkan 40 mg piridoksal hidroklorida dan 375 µg kalsium pantotenat dalam alkohol 10% sampai batas volume 200 ml, aduk. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak kurang dari 10°C, dan gunakan tidak lebih dari 30 hari.

**Larutan polisorbit 40-asam oleat.** Larutkan 25 g polisorbit 40 dan 0,25 g asam oleat ke dalam alkohol 20% sampai batas volume 500 ml, dan aduk. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak kurang dari 10°C.

**Stok kultur *pediococcus acidilactici* ATCC No. 8042.** Tambah 6,0 g pepton, 4,0 g kasein digest, 3,0 g sari ragi, 1,5 g sari daging, 1,0 g glukosa, dan 15,0 g agar dalam 800 ml air dengan pemanasan. Atur pH 6,5–6,6 dengan natrium hidroksida 0,1 N atau asam hidroklorida 0,1 N, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml, aduk. Pindahkan 10 ml larutan dalam tabung, sumbat tabung, dan sterilisasi dengan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan dengan posisi miring, dan simpan dalam lemari pendingin. Siapkan stok kultur *pediococcus acidilactici* di atas medium. Inkubasi pada suhu 35°C selama 20–24 jam, dan simpan di dalam lemari pendingin. Lakukan pemeliharaan stok kultur kedalam kutur segar pada agar miring setiap bulan.

#### Pembuatan medium pantotenat (modifikasi)

Bahan	Jumlah
Larutan asam kasein hidrolisat	25 ml
Larutan sistin tritofan	25 ml
Larutan polisorbit 80	0,25 ml
Glukosa anhidrat	10 g
Natrium asetat anhidrat	5 g
Larutan adenin-guanin-urasil	5 ml
Larutan riboflavin-tiamin hidroklorida-biotin	5 ml
Asam p-aminobenzoat-niasin-piridoksin hidroklorida	5 ml
Larutan garam 1	5 ml
Larutan garam 2	5 ml
Larutan piridoksal-kalsium pantotenat	5 ml
Larutan polisorbit 40-asam oleat	5 ml
Natrium hidroksida 1 M	pH 6,8
Encerkan dengan air sampai batas 250 ml	

**Inokulum.** Inokulasikan stok kultur agar miring dalam tiga tabung yang mengandung medium pantotenat (modifikasi) dan inkubasikan pada suhu 35°C selama 20–24 jam. Sentrifus suspensi dari ketiga tabung. Suspensikan kembali dalam medium pantotenat (modifikasi) dan encerkan sampai batas volume 1 dalam 50, setara dengan nilai transmisi cahaya 80% pada panjang gelombang 530 nm. Pindahkan 1,2 ml larutan stok dalam ampul, segel, bekukan dalam nitrogen cair, dan simpan dalam lemari pendingin.

Pada penetapan kadar, biarkan ampul mencapai suhu ruangan, kocok, dan encerkan 1 ml kultur dengan garam fisiologis sampai batas volume 150 ml. (*Catatan: Pengenceran ini mungkin saja berubah untuk memperoleh hasil penetapan kadar yang diinginkan*)

**Prosedur.** Pada delapan tabung, tambah air masing-masing 5,0; 4,5; 4,0; 3,5; 3,0; 2,0; 1,0 dan 0,0 ml. Pada tabung yang sama, tambah larutan standar masing-masing 0,0 ; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0 dan 5,0 ml. Pada lima tabung lain, tambah air masing-masing 4,0; 3,5; 3,0; 2,0 and 1,0 ml. Pada tabung yang sama, tambah larutan standar masing-masing 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0 ml.

Pada setiap tabung, tambah 5,0 ml medium pantotenat, aduk dan sumbat. Sterilisasi dengan otoklaf pada suhu 121°C selama 5 menit. Dinginkan sampai suhu ruang pada penangas air. Inokulasikan 0,5 ml inokulum ke dalam setiap tabung. Inkubasikan pada suhu 37°C selama 16 jam. Akhiri pertumbuhan dengan pemanasan pada suhu tidak kurang dari 80°C. Dinginkan, dan periksa kadar bakteri menggunakan spektrofotometer yang sesuai dengan panjang gelombang 530 nm.

**Penghitungan.** Penghitungan kadar ditetapkan dengan interpolasi pada kurva respon dosis pada kertas grafik aritmatika dengan cara menetapkan respon rata-rata, yang menghubungkan transmisi dengan konsentrasi standar.

#### Kalsium pantotenat

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada penetapan kadar kalsium pantotenat, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Lakukan seperti dalam penetapan kadar biotin, metode 2 dimulai dengan pada sediaan setara dengan 15 mg kalsium pantotenat, tambah 25 ml larutan standar internal, aduk selama 10 menit, sentrifus, saring, dan gunakan hasil saringan.
2. Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada penetapan kadar kalsium pantotenat, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan:

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam penetapan kadar biotin, metode 2 dimulai dengan pada sediaan setara 50 mg kalsium pantotenat, tambah 10 ml asam asetat 0,2 M dan 100 ml natrium asetat (1 dalam 60), encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml, dan saring. Encerkan sampai konsentrasi setara dengan larutan standar.

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam penetapan kadar biotin, metode 2 dimulai dengan pada sediaan setara dengan 10 mg kalsium pantotenat, tambah 10 ml metanol, dan kocok. Larutkan dengan air sampai batas volume 250 ml, aduk, dan saring.

#### Niasin atau niasinamida, piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin

##### Niasin

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada penetapan kadar niasin, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Lakukan seperti dalam penetapan kadar biotin, metode 2 dimulai dengan pada sediaan setara dengan 10 mg niasinamid, tambah masing-masing 2,5 mg piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin hidroklorida, tambah 25 ml pelarut dan aduk selama 30 detik. Rendam tabung sentrifus dalam penangas air pada suhu 65°—70°C, panaskan selama 5 menit, aduk selama 30 detik. Ulangi kembali proses di atas. Dinginkan pada suhu ruang, dan gunakan hasil saringan. (Catatan: Gunakan hasil saringan dalam 3 jam setelah penyaringan).
2. Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada penetapan kadar niasin, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Pada sediaan setara dengan 2 mg riboflavin atau setara dengan 2 mg piridoksin atau setara dengan 20 mg niasin atau niasinamid. Tambah 100 ml larutan pengeksrak, aduk selama 20 menit. Rendam botol dalam penangas air pada suhu 70°—75°C selama 20 menit. Aduk selama 30 detik, dinginkan pada suhu ruang, saring, dan gunakan hasil saringan.
3. Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada penetapan kadar niasin, metode 3 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Lakukan seperti penetapan kadar niasin, metode 2. Pada sediaan setara 7,5 mg niasin atau niasinamida, 1,2 mg piridoksin hidroklorida, 0,4 mg riboflavin, dan 1,2 mg tiamin hidroklorida, tambah 10 ml campuran metanol dan asam asetat glasial (9:1), 30,0 ml campuran metanol dan etilen glikol (1:1). Sumbat, kocok selama 15 menit sambil dipanaskan pada suhu 60°C, dinginkan dan saring, kemudian buang beberapa ml hasil saringan.

#### Niasinamid

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut

1. Lihat metode 1 untuk niasin.
2. Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada penetapan kadar niasinamid, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Lakukan seperti pada penetapan kadar niasin, metode 2.
3. Lihat metode 3 untuk niasin.

#### Piridoksin hidroklorida

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lihat metode 1 untuk niasin.
2. Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada penetapan kadar niasinamid, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Lakukan seperti pada penetapan kadar niasin, metode 2.
3. Lihat metode 3 untuk niasin.

#### Riboflavin

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lihat metode 1 untuk niasin.
2. Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada penetapan kadar niasinamid, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Lakukan seperti pada penetapan kadar niasin, metode 2.
3. Lihat metode 3 untuk niasin.

#### Sianokobalamin

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada penetapan kadar sianokobalamin, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet) menggunakan sediaan setara dengan 100 µg sianokobalamin.
2. Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada penetapan kadar sianokobalamin, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).

#### Tiamin

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lihat metode 1 untuk niasin.
2. Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada penetapan kadar tiamin metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasin, metode 2, pada sediaan setara dengan 2 mg tiamin. Tambah 100,0 ml asam hidroklorida 0,2 M, aduk selama 15 menit, panaskan selama 30 menit sampai mendidih. Dinginkan pada suhu ruang, saring dan gunakan hasil saringan yang jernih.
3. Lihat metode 3 untuk niasin.

#### Penyimpanan

Disimpan dalam wadah, tertutup rapat dan terlindung dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Vitamin Larut Air dan Lemak Larutan Oral

#### Definisi

Vitamin larut air, minyak dan mineral dalam sediaan larutan oral mengandung dua atau lebih vitamin larut lemak yaitu: vitamin A, vitamin D sebagai ergokalsiferol (vitamin D<sub>2</sub>) atau kolekalsiferol (vitamin D<sub>3</sub>), vitamin E, fitonadion (vitamin K<sub>1</sub>), β-karotin; dan satu atau lebih vitamin yang dapat larut dalam air yaitu: asam askorbat atau setara dengan kalsium askorbat atau natrium askorbat, biotin, sianokobalamin,

asam folat, niasin atau niasinamid, asam pantotenik (sebagai kalsium pantotenat atau rasemik kalsium pantotenat), piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin hidroklorida atau tiamin mononitrat dan dapat mengandung zat lain yang tertera dalam etiket dengan jumlah yang akurat.

Larutan oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan larutan oral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 80,0% dari jumlah yang tertera pada etiket untuk vitamin A ( $C_{20}H_{30}O$ ) sebagai retinol atau ester retinol dalam bentuk retinil asetat ( $C_{22}H_{32}O_2$ ) atau retinil palmitat ( $C_{36}H_{60}O_2$ ), vitamin D sebagai kolekalsiferol ( $C_{27}H_{44}O$ ) atau ergokalsiferol ( $C_{28}H_{44}O$ ), vitamin E sebagai  $\alpha$ -tokoferol ( $C_{29}H_{50}O_2$ ) atau  $\alpha$ -tokoferil asetat ( $C_{31}H_{52}O_3$ ) atau  $\alpha$ -tokoferil suksinat ( $C_{33}H_{54}O_5$ ), fitonadion ( $C_{31}H_{46}O_2$ ), dan  $\beta$ -karotin ( $C_{40}H_{56}$ ); tidak kurang 90% dari jumlah yang tertera dalam etiket untuk asam askorbat ( $C_6H_8O_6$ ) atau garamnya sebagai kalsium askorbat ( $C_{12}H_{14}CaO_{12} \cdot 2H_2O$ ) atau natrium askorbat ( $C_6H_7NaO_6$ ), biotin ( $C_{10}H_{16}N_2O_3S$ ), sianokobalamin ( $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ ), asam folat ( $C_{19}H_{19}N_7O_6$ ), niasin ( $C_6H_5NO_2$ ), atau niasinamid ( $C_6H_6N_2O$ ), kalsium pantotenat ( $C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$ ), piridoksin hidroklorida ( $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$ ), riboflavin ( $C_{17}H_{20}N_4O_6$ ), dan tiamin ( $C_{12}H_{17}ClN_4OS$ ) sebagai tiamin hidroklorida atau tiamin mononitrat.

#### Identifikasi

Lakukan dengan cara seperti yang tertera pada penetapan kadar.

**Kandungan alkohol.** Ditemukannya sejumlah  $C_2H_5OH$  tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 120% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Catatan.** Dalam penetapan kadar berikut, dimana lebih dari satu metode penetapan kadar digunakan untuk zat aktif tunggal, persyaratan dipenuhi dengan salah satu metode yang telah ditentukan.

#### Penetapan kadar

##### Vitamin A

Lakukan dengan metode kromatografi cair menggunakan:

**Pelarut.** Campuran tetrahidrofur dan asetonitril (1:1).

**Fase gerak.** Campuran metanol, asetonitril dan n-heksan (46,5 : 46,5 : 7,0).

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar vitamin A (retinil asetat) dalam pelarut sampai konsentrasi 0,33 mg/ml.

**Larutan kesesuaian sistem.** Larutkan sediaan retinil palmitat dalam n-heksan sampai konsentrasi 15  $\mu$ g/ml. Campur dengan volume yang sama dengan larutan standar (masing-masing mengandung 7,5  $\mu$ g retinil asetat/ml dan 7,5  $\mu$ g retinil palmitat/ml).

**Larutan uji.** Pindahkan sediaan setara dengan 3,3 mg vitamin A dalam labu pisah - 500 ml yang mengandung 10 ml air dan 20 ml alkohol anhidrat. Tambah 150 ml

heksan, sumbat dan aduk selama 1 menit. Tambah 150 ml heksan, sumbat dan aduk, diamkan sampai larutan terpisah dan buang lapisan air. Saring lapisan heksan melalui natrium sulfat anhidrat dan masukkan ke dalam labu-500 ml. Uapkan sampai kering menggunakan rotavapor pada suhu 65°C. Tambah segera 10 ml pelarut, aduk sampai residu larut dan saring.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 4,6 mm x 25 cm atau yang sesuai, suhu 40°C.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 265 nm.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi antara retinil asetat dan retinil palmitat tidak kurang dari 10; dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 5,0%.

Injek 20  $\mu$ l larutan standar dan larutan uji. Untuk produk mengandung vitamin A asetat atau vitamin A palmitat, Hitung kadar (mg), dari vitamin A sebagai retinol dengan rumus:

$$10 \left( \frac{0,872 C}{V} \right) \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

0,872 = faktor konversi untuk retinil asetat dari standar vitamin A

C = konsentrasi standar vitamin A (mg/ml)

V = volume sediaan larutan uji dalam ml

$A_S$  = area larutan uji

$A_{Std}$  = area larutan standar.

##### Vitamin D (kolekalsiferol atau ergokalsiferol)

(Catatan: Gunakan standar vitamin D yang sesuai dengan sediaan).

Lakukan dengan metode kromatografi cair menggunakan:

**Pelarut dan fase gerak.** Lakukan seperti dalam penetapan kadar vitamin A.

**Larutan standar.** Larutkan standar kolekalsiferol atau ergokalsiferol dalam n-heksan sampai konsentrasi 5  $\mu$ g/ml.

**Larutan kesesuaian sistem.** Panaskan larutan standar pada suhu 60°C selama 1 jam untuk mendapatkan isomer vitamin D (kolekalsiferol atau ergokalsiferol) sebagai prekursor.

**Larutan uji.** Pindahkan sediaan setara dengan 50  $\mu$ g kolekalsiferol atau ergokalsiferol ke dalam labu pisah-500 ml yang mengandung 10 ml air dan 20 ml alkohol anhidrat. Tambah 150 ml heksan, sumbat dan aduk selama 1 menit. Tambah 150 ml heksan sumbat dan aduk, diamkan sampai larutan terpisah. Buang lapisan air, dan saring lapisan heksan melalui natrium sulfat anhidrat dan masukkan ke dalam labu 500 ml. Uapkan sampai kering menggunakan rotavapor pada suhu 65°C. Tambah segera 10 ml pelarut, aduk sampai residu larut, dan saring.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 4,6 mm x 25 cm atau yang sesuai, suhu 40°C.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 265 nm.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi antara vitamin D yang terbentuk dan prekursor tidak kurang dari 10; dan simpangan baku relatif untuk tidak lebih dari 3%.

Injek 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dari kolekalsiferol atau ergokalsiferol dengan rumus:

$$1,09 \left( \frac{10 C}{V} \right) \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

1,09 = faktor konversi untuk previtamin D dari standar vitamin D

C = konsentrasi standar vitamin D (µg/ml)

V = volume sediaan larutan uji (ml)

A<sub>s</sub> = area larutan uji

A<sub>Std</sub> = area larutan standar.

### Vitamin E

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pelarut.** Campur asetonitril dan etil asetat (1:1).

**Larutan kalium hidroksida.** Larutkan dan encerkan 90 g kalium hidroksida dengan air sampai batas volume 100 ml. Aduk sampai larut, dinginkan.

**Fase gerak.** Campur metanol, asetonitril, dan n-heksan (46,5:46,5:7,0).

**Larutan standar.** Larutkan standar α-tokoferol dengan pelarut sampai konsentrasi 0,3 mg/ml.

**Larutan kesesuaian sistem.** Larutkan standar ergokalsiferol dalam metanol sampai konsentrasi 0,65 mg/ml. Pindahkan 1 ml larutan ke dalam labu yang mengandung 100 mg α-tokoferil asetat. Larutkan dengan 30 ml metanol dan aduk. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 1,5 mg α-tokoferol, tambah 25 ml alkohol anhidrat. Refluks kondensor dalam penangas air pada suhu 60 -700 C selama 1 menit. Tambah dengan hati-hati 3 ml kalium hidroksida melalui kondensor, lanjutkan refluks selama 30 menit. Keluarkan labu dari penangas air, bilas kondensor dengan 15 ml air. Dinginkan dan pindahkan dengan bantuan sedikit air dalam labu pisah 250 ml. Bilas labu dengan 50 ml n-heksan. Aduk dengan kuat selama 1 menit dan biarkan lapisan terpisah. Alirkan lapisan air ke dalam labu kocok kedua, ulangi proses ekstraksi dengan 50 ml n-heksan. Buang lapisan air dan campurkan lapisan heksan. Bilas fase heksan dengan 25 ml air, biarkan terpisah dan buang lapisan air. Tambah 3 tetes asam asetat glasial dan ulangi proses pembilasan dua kali atau lebih. Saring fase heksan melalui natrium sulfat anhidrat dan masukan ke dalam labu-250 ml. Bilas corong dan natrium sulfat dengan n-heksan. Uapkan ekstrak heksan dengan rotavapor pada suhu 50°C sampai kering. Tambah 5 ml pelarut dan aduk sampai residu larut.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 4,6 mm x 25 cm atau yang sesuai, suhu 40°C.

**Laju alir.** 3 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 291 nm.

**Kesesuaian sistem.** Waktu tambat relatif 0,5 untuk ergokalsiferol dan 1,0 untuk α-tokoferil asetat; resolusi antara ergokalsiferol dan α-tokoferil asetat tidak kurang dari 12.

Injek 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus:

$$5 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi standar α-tokoferol (mg/ml)

V = volume sediaan larutan uji (ml)

A<sub>s</sub> = area larutan uji

A<sub>Std</sub> = area larutan standar.

### Vitamin K (fitonadion)

Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar fitonadion (vitamin larut air, lemak dan mineral tablet).

### β-Karoten

Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar β-karoten (vitamin larut air, lemak dan mineral tablet).

### Asam askorbat, kalsium askorbat dan natrium askorbat

Lakukan dengan metode titrasi dengan cara:

Pada sediaan setara dengan 80 mg asam askorbat, tambah 50 ml air, 100 ml asam sulfat 0,1 M dan 15,0 ml iodium 0,1 M. Aduk selama 30 detik, tambah 5 ml kanji, dan segera titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 M sampai warna hilang. Setiap ml iodium 0,1 M setara dengan 8,806 mg C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub> atau setara dengan 10,66 mg C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>CaO<sub>12</sub>.2H<sub>2</sub>O atau setara dengan 9,905 mg C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>NaO<sub>6</sub>.

### Biotin

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar biotin, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Larutkan dan encerkan sediaan sampai konsentrasi 0,1 µg/ml.
2. Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar biotin, metode 3 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Larutkan dan encerkan sediaan sampai konsentrasi 0,6 µg/ml. Atur pH 6,0—7,0 dengan natrium hidroksida 0,1 M.

### Vitamin B<sub>12</sub> (sianokobalamin)

Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar sianokobalamin, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Pada sediaan setara dengan 1,0 µg sianokobalamin, tambah 25 ml pelarut segar (setiap 100 ml mengandung 1,29

dinatrium fosfat 1,1 g asam sitrat anhidrat dan 1 g natrium metabisulfid). Masukkan kedalam otoklaf pada suhu 121°C selama 10 menit, jika diperlukan saring atau sentrifus. Encerkan larutan dengan air sampai konsentrasi setara dengan larutan standar.

### Asam folat

Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar asam folat, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).

### Kalsium pantotenat

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan kadar kalsium pantotenat dengan prosedur berikut:

**Asam fosfat encer.** Encerkan 11,8 ml asam fosfat dengan air sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Fase gerak.** Campur 30 ml metanol dengan 970 ml natrium fosfat 0,2 M. Atur pH  $3,2 \pm 0,1$  dengan asam fosfat encer dan saring.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar kalsium pantotenat dengan fase gerak sampai konsentrasi 80 µg/ml.

**Larutan kesesuaian sistem.** Larutkan dan encerkan standar rasemik pantenol dengan fase gerak sampai konsentrasi 80 µg/ml. Encerkan 5,0 ml larutan dengan larutan standar sampai volume 10 ml dan aduk.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan dengan fase gerak sampai konsentrasi 80 µg/ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 10 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 210 nm.

Injek larutan kesesuaian sistem. Resolusi antara pantenol dengan kalsium pantotenat tidak kurang 1,5 dan puncak ikutan tidak lebih dari 2. Simpangan baku relatif dari area puncak standar tidak lebih dari 2%.

**Injek.** 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar kalsium pantotenat ( $C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$ ) dalam mg pada sediaan dengan rumus:

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi standar kalsium pantotenat (mg/ml)

L = jumlah sediaan (mg/ml)

D = konsentrasi sediaan larutan uji (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area larutan uji

A<sub>Std</sub> = area larutan standar.

2. Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar kalsium pantotenat, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan

uji: Pada sediaan setara dengan 50 mg kalsium pantotenat, tambah 10 ml asam asetat 0,2 M dan 100 ml natrium asetat (1 dalam 60). Encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml dan jika diperlukan saring. Encerkan sampai konsentrasi setara dengan standar.

### Dekspantenol atau pantenol

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan seperti dalam penetapan kadar kalsium pantotenat, metode 1, menggunakan:

Asam fosfat encer, fase gerak dan larutan kesesuaian sistem.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar dekspantenol atau rasemik pantenol dengan fase gerak sampai konsentrasi 80 µg/ml.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan dengan fase gerak sampai konsentrasi 80 µg/ml (dekspantenol).

**Injek.** 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar dekspantenol ( $C_9H_{19}NO_4$ ) atau pantenol ( $C_9H_{19}NO_4$ ) (mg/ml) sediaan dengan rumus:

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi standar pantotenol (mg/ml)

L = jumlah sediaan (mg/ml)

D = konsentrasi sediaan larutan uji (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area larutan uji

A<sub>Std</sub> = area larutan standar.

2. Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar dekspantenol atau pantenol, metode 2 (vitamin larut air kapsul), menggunakan larutan uji: Larutkan dan encerkan sediaan setara dengan 1,2 mg dekspantenol atau 2,4 mg pantenol dengan air sampai konsentrasi 1,2 µg dekspantenol atau 2,4 µg pantenol.

### Niasin atau niasinamid

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pelarut.** Larutkan dan encerkan 25 g dinatrium edetat dengan air sampai batas volume 1000 ml dan aduk.

**Fase gerak.** Campur 0,4 ml trietilamin, 15,0 ml asam asetat glasial, dan 350 ml metanol. Encerkan dengan natrium 1-heksansulfonat 0,008 M sampai batas volume 2000 ml dan saring.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar niasin atau niasinamid dengan pelarut sampai konsentrasi 0,10 mg/ml.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan dalam pelarut sampai konsentrasi 0,1 mg/ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 270 nm.

Injek larutan kesesuaian sistem. Resolusi antara pantenol dengan kalsium pantotenat tidak kurang 1,5 dan puncak ikutan tidak lebih dari 2. Simpangan baku relatif dari area puncak standar tidak lebih dari 2%.

**Injek.** 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar niasin ( $C_6H_5NO_2$ ) atau niasinamid ( $C_6H_6N_2O$ ) (mg/ml) sediaan dengan rumus:

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi standar niasin (mg/ml)

L = jumlah sediaan (mg/ml)

D = konsentrasi sediaan larutan uji (mg/ml)

A<sub>S</sub> = area larutan uji

A<sub>Std</sub> = area larutan standar.

#### Piridoksin hidroklorida

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasin atau niasinamid, menggunakan: Pelarut, fase gerak dan sistem kromatografi.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar piridoksin hidroklorida dengan pelarut sampai konsentrasi 0,024 mg/ml.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan dengan pelarut sampai konsentrasi 0,024 mg/ml.

**Injek.** 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar piridoksin hidroklorida ( $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$ ) (mg/ml) sediaan dengan rumus:

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi standar niasin (mg/ml)

L = jumlah sediaan (mg/ml)

D = konsentrasi sediaan larutan uji (mg/ml)

A<sub>S</sub> = area larutan uji

A<sub>Std</sub> = area larutan standar.

#### Riboflavin atau 5-riboflavin natrium fosfat

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasin atau niasinamid, menggunakan: Pelarut, fase gerak dan sistem kromatografi.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar riboflavin dengan pelarut sampai konsentrasi 8 µg/ml, jika perlu dengan pemanasan.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan

dengan pelarut sampai konsentrasi 8 µg/ml.

**Injek.** 5 µl larutan standar dan larutan uji.

Waktu tambat relatif untuk 5-riboflavin fosfat sekitar 0,18 dan riboflavin 1,0.

Hitung kadar riboflavin ( $C_{17}H_{20}N_4O_6$ ) (mg/ml) sediaan dengan rumus:

$$1,493 C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

1,493 = faktor konversi untuk riboflavin-5'-fosfat terhadap riboflavin

C = konsentrasi standar niasin (mg/ml)

L = jumlah sediaan (mg/ml)

D = konsentrasi sediaan larutan uji (mg/ml)

A<sub>S</sub> = area larutan uji

A<sub>Std</sub> = area larutan standar.

2. Lakukan dengan metode fluorometri, menggunakan:

**Blanko.** Pada 1 ml asam hidroklorida 1 M dan 2 ml natrium asetat 2,5 M encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Larutan stok standar.** Pada sediaan setara dengan 16 mg standar riboflavin, tambah 1 ml asam hidroklorida 1 M dan 2 ml natrium asetat 2,5 M, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Larutan standar.** Pada 5 ml larutan stok standar riboflavin, tambah 5 ml asam hidroklorida 1 M dan 10 ml natrium asetat 2,5 M, encerkan dengan air sampai batas volume 500 ml dan aduk.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 0,8 mg riboflavin, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml dan aduk. Pada 10 ml larutan, tambah 5 ml asam hidroklorida 1 M dan 10 ml natrium asetat 2,5 M, encerkan dengan air sampai batas volume 500 ml dan aduk.

**Detektor.** Spektrofluorometer pada panjang gelombang Em 530 nm dan Ex 440 nm.

Hitung kadar riboflavin ( $C_{17}H_{20}N_4O_6$ ) (mg/ml) sediaan, dengan rumus:

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi standar niasin (mg/ml)

L = jumlah sediaan (mg/ml)

D = konsentrasi sediaan larutan uji (mg/ml)

A<sub>S</sub> = area larutan uji

A<sub>Std</sub> = area larutan standar.

#### Tiamin

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasin, menggunakan: Pelarut, fase gerak dan sistem kromatografi.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar tiamin hidroklorida dengan pelarut sampai konsentrasi 0,024 mg/ml.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan dengan pelarut sampai konsentrasi 0,024 mg/ml.

**Injek.** 5 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar tiamin hidroklorida ( $C_{12}H_{17}ClN_4OS \cdot HCl$ ) (mg/ml) sediaan dengan rumus:

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi standar niasin (mg/ml)

L = jumlah sediaan (mg/ml)

D = konsentrasi sediaan larutan uji (mg/ml)

$A_s$  = area larutan uji

$A_{Std}$  = area larutan standar.

### Penyimpanan

Disimpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Vitamin Larut Air dan Mineral

### Vitamin Larut Air dan Mineral Kapsul

#### Definisi

Vitamin larut air dan mineral kapsul adalah mengandung dua atau lebih vitamin larut air yaitu: asam askorbat atau setara dengan kalsium askorbat atau natrium askorbat, biotin, sianokobalamin, asam folat, deksipantenol atau pantenol, asam pantotenik (sebagai kalsium pantotenat atau rasemik kalsium pantotenat), piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin hidroklorida atau tiamin mononitrat; dan satu atau lebih mineral dilengkapi dengan satu atau lebih unsur-unsur berikut dalam ionisasi: kalsium, kromium, tembaga, fluorin, iodium, besi, magnesium, mangan, molibdenum, fosfor, kalium, selenium, dan seng. Dapat mengandung zat lain yang tertera dalam label dengan jumlah yang akurat.

Kapsul memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan kapsul dan persyaratan berikut.

Mengandung tidak kurang 80,0% dari jumlah yang tertera dalam etiket untuk asam askorbat ( $C_6H_8O_6$ ) atau garamnya sebagai kalsium askorbat ( $C_{12}H_{14}CaO_{12} \cdot 2H_2O$ ) atau natrium askorbat ( $C_6H_7NaO_6$ ), biotin ( $C_{10}H_{16}N_2O_3S$ ), sianokobalamin

( $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ ), asam folat ( $C_{19}H_{19}N_7O_6$ ), deksipantenol ( $C_9H_{19}NO_4$ ) atau pantenol ( $C_9H_{19}NO_4$ ), kalsium pantotenat ( $C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$ ), niasin ( $C_6H_5NO_2$ ) atau niasinamid ( $C_6H_6N_2O$ ), piridoksin hidroklorida ( $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$ ), riboflavin ( $C_{17}H_{20}N_4O_6$ ), dan tiamin ( $C_{12}H_{17}ClN_4OS$ ) sebagai tiamin hidroklorida atau tiamin mononitrat; tidak kurang 80,0% dari jumlah yang tertera dalam etiket untuk kalsium (Ca), tembaga (Cu), besi (Fe), magnesium (Mg), mangan (Mn), fosfor (P), kalium (K), dan seng (Zn); kromium (Cr), fluorin (F), iodium (I), molibdenum (Mo), dan selenium (Se).

#### Identifikasi

Lakukan cara yang tertera pada penetapan kadar

**Waktu hancur dan disolusi.** Memenuhi persyaratan untuk waktu hancur.

**Keseragaman berat.** Memenuhi persyaratan.

**Catatan.** Dalam pengujian berikut, dimana lebih dari satu metode pengujian digunakan untuk zat aktif tunggal, persyaratan dipenuhi dengan salah satu metode yang telah ditentukan.

#### Penetapan kadar

##### Asam askorbat, kalsium askorbat dan natrium askorbat

Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar asam askorbat, kalsium askorbat, natrium askorbat, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).

#### Biotin

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar biotin, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Lakukan seperti dalam penetapan kadar biotin, Metode 2 dimulai dengan pada sediaan setara dengan 1 mg biotin. Tambah 3 ml dimetilsulfoksida dan aduk. Panaskan dalam penangas air pada suhu 60°—70°C selama 5 menit. Kemudian sonikasi selama 5 menit, larutkan dengan air sampai batas volume 200 ml, aduk dan saring.
- Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar biotin, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Pada sediaan setara dengan 100 µg biotin, tambah 3 ml alkohol 50%, dan aduk. Panaskan dalam penangas air pada suhu 60°—70°C selama 5 menit. Sonikasi selama 5 menit, encerkan dalam alkohol 50% sampai batas volume 200 ml, aduk dan saring. Encerkan dengan air sampai konsentrasi 0,1 mg/ml.

#### Sianokobalamin

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar sianokobalamin, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet) menggunakan sediaan setara dengan 100 µg sianokobalamin.



- Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar sianokobalamin, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).

#### Asam Folat

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar asam folat, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Lakukan seperti dalam penetapan kadar biotin. Metode 1, dimulai dengan pada sediaan setara dengan 0,4 mg asam folat, tambah 25 ml larutan standar, sumbat, aduk selama 10 menit, dan sentrifus. Saring supernatan dan gunakan hasil saringannya.
- Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Lakukan seperti dalam penetapan kadar biotin, metode 2 dimulai dengan pada sediaan setara dengan 0,3 mg asam folat. Tambah 10 ml campuran metanol dan asam asetat glasial (9:1) dan 30 ml campuran metanol dan etilen glikol (1:1). Sumbat dan kocok selama 15 menit di dalam penangas air pada suhu 60°C, dan dinginkan. Saring dan buang beberapa ml hasil saringan pertama.

#### Dekspantenol atau pantenol

Lakukan seperti dalam penetapan kadar dekspantenol atau pantenol (vitamin larut air kapsul).

#### Kalsium pantotenat

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar kalsium pantotenat, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: lakukan seperti dalam penetapan kadar biotin, metode 2 dimulai dengan pada sediaan setara 15 mg kalsium pantotenat. Tambah 25 ml larutan standar internal, aduk selama 10 menit, sentrifus, saring, dan gunakan hasil saringan.
- Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar kalsium pantotenat, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: lakukan seperti dalam penetapan kadar biotin, metode 2 dimulai dengan pada sediaan setara dengan 50 mg kalsium pantotenat. Tambah 10 ml asam asetat 0,2M dan 100 ml natrium asetat (1 dalam 60), encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml, dan saring. Encerkan dengan air sampai konsentrasi setara dengan larutan standar.
- Lakukan seperti dalam penetapan kadar kalsium pantotenat, metode 3 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Lakukan seperti dalam penetapan kadar asam askorbat, metode 1, dimulai dari pindahkan sediaan setara dengan 10 mg kalsium pantotenat, ke dalam labu ukur 250-ml, tambah 10 ml metanol, dan aduk. Larutkan dengan air sampai batas volume 250 ml, aduk, dan saring.

#### Niasin atau niasinamid, piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin

##### Niasin

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan seperti penetapan kadar niasin atau niasinamid, piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Pada sediaan setara dengan 10 mg niasinamid dan masing-masing 2,5 mg piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin hidroklorida, tambah 25 ml larutan pengencer dan aduk selama 30 detik. Panaskan selama 5 menit pada suhu 65°—70°C dan aduk selama 30 detik. Panaskan kembali selama 5 menit, dan aduk selama 30 detik. Saring, dinginkan pada suhu ruang, dan gunakan hasil saringan. (gunakan hasil saringan sebelum 3 jam).
- Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasin, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Pada sediaan setara dengan 2 mg riboflavin atau setara dengan 2 mg piridoksin atau setara dengan 20 mg niasin atau niasinamid. Tambah 100 ml larutan pengekstrak, dan aduk selama 20 menit. Panaskan selama 20 menit pada suhu 70°—75°C. Aduk selama 30 detik, dinginkan pada suhu ruang dan saring. Gunakan hasil saringan.
- Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasin atau niasinamid, piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin, metode 3 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Lakukan seperti dalam penetapan kadar asam askorbat, metode 1, dimulai dengan pada sediaan setara dengan 7,5 mg niasin atau niasinamid, 1,2 mg piridoksin hidroklorida, 0,4 mg riboflavin, dan 1,2 mg tiamin hidroklorida. Tambah 10 ml larutan metanol dan asam asetat glasial (9:1), 30 ml larutan metanol dan etilen glikol (1:1). Sumbat, kocok selama 15 menit sambil dipanaskan pada suhu 60°C, dan dinginkan. Saring, kemudian buang beberapa ml hasil saringan.

##### Niasinamid

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lihat metode 1 untuk niasin.
- Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasinamid, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: lakukan seperti dalam larutan uji untuk niasin, metode 2.
- Lihat metode 3 untuk niasin.

##### Piridoksin hidroklorida

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lihat metode 1 untuk niasin.
- Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasinamid, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral

tablet), menggunakan larutan uji: lakukan seperti dalam larutan uji untuk niasin, metode 2.

3. Lihat metode 3 untuk niasin.

### Riboflavin

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lihat metode 1 untuk niasin.
2. Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasinamid, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: lakukan seperti dalam larutan uji untuk niasin, Metode 2.
3. Lihat metode 3 untuk niasin.

### Tiamin

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lihat metode 1 untuk niasin.
2. Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasinamid, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan larutan uji: lakukan seperti dalam penetapan kadar asam askorbat, Metode 1, dimulai dengan pada sediaan setara dengan 2 mg tiamin. Tambahkan 100 ml asam hidroklorida 0,2M, kocok selama 15 menit, dan panaskan selama 30 menit. Dinginkan sampai pada suhu ruangan, saring, dan gunakan hasil saringan.
3. Lihat metode 3 untuk niasin.

**Kalsium, kromium, tembaga, fluorin, iodium, besi, magnesium, mangan, molibdenum, fosfor, kalium, selenium, seng**

Lakukan dengan metode seperti yang tertera pada vitamin larut lemak, air dan mineral tablet.

### Penyimpanan

Disimpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Vitamin Larut Air dan Mineral Larutan Oral

### Definisi

Vitamin larut air dalam sediaan larutan oral mengandung dua atau lebih vitamin larut air yaitu: sianokobalamin, niasin atau niasinamid, dekspantenol atau pantenol, asam pantotenat (sebagai kalsium pantotenat atau rasemik kalsium pantotenat), piridoksin hidroklorida, riboflavin atau natrium riboflavin-5'-fosfat, dan tiamin hidroklorida atau tiamin mononitrat; dan satu atau lebih mineral dilengkapi dengan satu atau lebih unsur-unsur berikut dalam ionisasi: iodium, besi, magnesium, mangan, dan seng.

Larutan oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan larutan oral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang 80,0% dari jumlah yang tertera pada sianokobalamin ( $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ ), tiamin ( $C_{12}H_{17}ClN_4OS$ ) sebagai tiamin hidroklorida atau tiamin mononitrat; kalsium pantotenat ( $C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$ ), dekspantenol ( $C_9H_{19}NO_4$ ) atau pantenol ( $C_9H_{19}NO_4$ ), niasin ( $C_6H_5NO_2$ ) atau niasinamid ( $C_6H_6N_2O$ ), piridoksin hidroklorida ( $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$ ), dan riboflavin ( $C_{17}H_{20}N_4O_6$ ) atau natrium riboflavin-5'-fosfat ( $C_{17}H_{20}N_4NaO_9P$ ), iodium (I), besi (Fe), magnesium (Mg), mangan (Mn), dan seng (Zn).

### Identifikasi

Lakukan seperti pada penetapan kadar.

**Alkohol.** Tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera.

### Penetapan kadar

#### Vitamin B<sub>1</sub> (tiamin)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar niasin atau niasinamid (vitamin larut lemak, air dan mineral larutan oral), menggunakan: Pelarut, fase gerak, dan sistem kromatografik.
2. Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar tiamin (vitamin larut lemak, air dan mineral larutan oral), menggunakan larutan standar, larutan uji, dan prosedur.

#### Vitamin B<sub>2</sub> (riboflavin atau riboflavin-5'-natrium fosfat)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar piridoksin hidroklorida (vitamin larut lemak, air dan mineral larutan oral), menggunakan pelarut, fase gerak, dan sistem kromatografik.
2. Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar riboflavin atau riboflavin-5'-natrium fosfat, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral larutan oral), menggunakan larutan standar, larutan uji, dan prosedur.
3. Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar riboflavin atau riboflavin-5'-natrium fosfat, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral larutan oral).

#### Vitamin B<sub>3</sub> (niasin atau niasinamid)

Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar niasin atau niasinamid (vitamin larut lemak, air dan mineral larutan oral).

#### Vitamin B<sub>6</sub> (piridoksin hidroklorida)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar niasin atau niasinamid (vitamin larut lemak, air dan mineral larutan oral), menggunakan pelarut, fase gerak, dan sistem kromatografik.

- Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar piridoksin hidroklorida (vitamin larut lemak, air dan mineral larutan oral), menggunakan larutan standar, larutan uji, dan prosedur.

#### Vitamin B<sub>12</sub> (sianokobalamin)

Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar sianokobalamin, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet), menggunakan:

**Larutan pengestrak.** Pada setiap 100 ml mengandung 1,29 g natrium fosfat dibasa, 1,1 g asam sitrat anhidrat, dan 1,0 g dari natrium metabisulfit.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 1,0 µg sianokobalamin, tambah 25 ml larutan pengestrak. Masukkan kedalam otoklaf pada suhu 121°C selama 10 menit. Biarkan sampai tercampur, saring atau jika diperlukan, sentrifus. Encerkan larutan dengan air sampai konsentrasi mengandung vitamin B<sub>12</sub> setara dengan larutan standar.

#### Kalsium pantotenat

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar kalsium pantotenat, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral larutan oral).
- Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar kalsium pantotenat, metode 2 (vitamin larut lemak dan air dengan mineral tablet), menggunakan larutan uji: Pada sediaan setara dengan 50 mg kalsium pantotenat, tambah 10 ml asam asetat 0,2 M dan 100 ml larutan natrium asetat (1 dari 60), encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml, dan saring. Encerkan larutan dengan air sampai konsentrasi setara dengan larutan standar.

#### Dekspantenol atau pantenol

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar kalsium pantotenat, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral larutan oral), menggunakan asam fosfat encer, fase gerak, dan sistem kromatografi.
- Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar dekspantenol atau pantenol, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral larutan oral), menggunakan larutan standar, larutan kesesuaian sistem, larutan uji, dan prosedur.
- Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar dekspantenol atau pantenol (vitamin larut air kapsul), menggunakan larutan uji: Pada sediaan setara dengan 1,2 mg dekspantenol atau 2,4 mg pantenol, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml dan aduk. Encerkan dengan air sampai konsentrasi 1,2 µg/ml dekspantenol atau 2,4 µg/ml pantenol.

#### Kalsium, kromium, tembaga, fluorin, iodium, besi, magnesium, mangan, molibdenum, fosfor, kalium, selenium dan seng

Lakukan dengan metode seperti yang tertera pada vitamin larut lemak, air dan mineral larutan oral.

#### Penyimpanan

Disimpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Vitamin Larut Air dan Mineral Tablet

#### Definisi

Vitamin larut air dan mineral tablet adalah mengandung dua atau lebih vitamin larut air yaitu: asam askorbat atau setara dengan natrium askorbat atau kalsium askorbat, biotin, sianokobalamin, asam folat, niasin atau niasinamid, dekspantenol atau pantenol, asam pantotenat (sebagai kalsium pantotenat atau rasemik kalsium pantotenat), piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin hidroklorida atau tiamin mononitrat; dan satu atau lebih mineral dilengkapi dengan satu atau lebih unsur-unsur berikut: kalsium, kromium, tembaga, fluorin, iodium, besi, magnesium, mangan, molibdenum, fosfor, kalium, selenium, dan seng. Dapat mengandung zat lain yang tertera di etiket dengan jumlah yang akurat.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang 80,0% dari jumlah yang tertera pada etiket untuk asam askorbat (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) atau garamnya sebagai kalsium askorbat (C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>CaO<sub>12</sub>·2H<sub>2</sub>O) atau natrium askorbat (C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>NaO<sub>6</sub>), biotin (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S), sianokobalamin (C<sub>63</sub>H<sub>88</sub>CoN<sub>14</sub>O<sub>14</sub>P), asam folat (C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub>), kalsium pantotenat (C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>CaN<sub>2</sub>O<sub>10</sub>), niasin (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>2</sub>) atau niasinamid (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O), piridoksin hidroklorida (C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>·HCl), riboflavin (C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>), dan tiamin (C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>CIN<sub>4</sub>OS) sebagai tiamin hidroklorida atau tiamin mononitrat; sama atau tidak kurang dari 80,0% dari jumlah yang tertera pada etiket untuk kalsium (Ca), tembaga (Cu), besi (Fe), magnesium (Mg), mangan (Mn), fosfor (P), kalium (K), dan seng (Zn); kromium (Cr), fluorin (F), iodium (I), molibdenum (Mo), dan selenium (Se).

#### Identifikasi

Lakukan dengan cara seperti yang tertera pada penetapan kadar.

**Waktu hancur dan disolusi.** Memenuhi persyaratan untuk uji waktu hancur.

**Keseragaman bobot.** Memenuhi persyaratan uji keseragaman.

**Penetapan kadar****Vitamin B<sub>1</sub> (tiamin)**

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lihat metode 1 untuk niasin
2. Lakukan seperti dalam penetapan kadar tiamin, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet) kecuali kaplet menggunakan larutan uji: lakukan seperti larutan uji pada penetapan kadar niasin, metode 2.
3. Lihat metode 3 untuk niasin.

**Vitamin B<sub>2</sub> (riboflavin atau riboflavin-5'-natrium fosfat)**

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lihat metode 1 untuk niasin
2. Lakukan seperti dalam penetapan kadar riboflavin, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet) kecuali kaplet menggunakan larutan uji : lakukan seperti larutan uji pada penetapan kadar niasin, metode 2.
3. Lihat metode 3 untuk niasin

**Vitamin B<sub>3</sub> (niasin)**

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasin atau niasinamid, piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).
2. Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasin, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).
3. Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasin atau niasinamid, piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin, metode 3 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).

**Vitamin B<sub>3</sub> (niasinamid)**

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lihat metode 1 untuk niasin.
2. Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasinamid, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).
3. Lihat metode 3 untuk niasin.

**Vitamin B<sub>6</sub> (piridoksin hidroklorida)**

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lihat metode 1 untuk niasin.
2. Lakukan seperti dalam penetapan kadar piridoksin hidroklorida, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).
3. Lihat metode 3 untuk niasin.

**Vitamin B<sub>12</sub> (sianokobalamin)**

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan seperti dalam penetapan kadar sianokobalamin, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).
2. Lakukan seperti dalam penetapan kadar sianokobalamin, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).

**Vitamin H (biotin)**

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan seperti dalam penetapan kadar biotin, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).
2. Lakukan seperti dalam penetapan kadar biotin, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).
3. Lakukan seperti dalam penetapan kadar biotin, metode 3 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).

**Asam askorbat, kalsium askorbat dan natrium askorbat**

Lakukan seperti dalam penetapan kadar asam askorbat, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).

**Asam folat**

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan seperti dalam penetapan kadar asam folat, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).
2. Lakukan seperti dalam penetapan kadar asam folat, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).

**Kalsium pantotenat**

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan seperti dalam penetapan kadar kalsium pantotenat, metode 1 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).
2. Lakukan seperti dalam penetapan kadar kalsium pantotenat, metode 2 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).
3. Lakukan seperti dalam penetapan kadar kalsium pantotenat, metode 3 (vitamin larut lemak, air dan mineral tablet).

**Kalsium, kromium, tembaga, fluorin, iodium, besi, magnesium, mangan, molibdenum, fosfor, kalium, selenium dan seng**

Lakukan dengan metode seperti yang tertera pada vitamin larut lemak, air dan mineral tablet.

**Penyimpanan**

Disimpan dalam wadah, tertutup rapat dan terlindung dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Vitamin Larut Air, Lemak dan Mineral

### Vitamin Larut Air, Lemak dan Mineral Larutan Oral

**Definisi**

Vitamin larut air, minyak dan mineral dalam sediaan larutan oral mengandung dua atau lebih vitamin larut lemak yaitu: Vitamin A, vitamin D sebagai ergokalsiferol (vitamin D<sub>2</sub>) atau kolekalsiferol (vitamin D<sub>3</sub>), vitamin E, fitonadion (vitamin K<sub>1</sub>), β-karotin; dan satu atau lebih vitamin yang dapat larut dalam air yaitu: asam askorbat atau setara dengan kalsium askorbat atau natrium askorbat, biotin, sianokobalamin, asam folat, niasin atau niasinamid, asam pantotenik (sebagai kalsium pantotenat atau rasemik kalsium pantotenat), piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin hidroklorida atau tiamin mononitrat dan dapat mengandung zat lain yang tertera dalam etiket dengan jumlah yang akurat.

Larutan oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan larutan oral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang 80,0% dari jumlah yang tertera pada etiket untuk vitamin A (C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O) sebagai retinol atau ester retinol dalam bentuk retinil asetat (C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>) atau retinil palmitat (C<sub>36</sub>H<sub>60</sub>O<sub>2</sub>), vitamin D sebagai kolekalsiferol (C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O) atau ergokalsiferol (C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O), vitamin E sebagai α-tokoferol (C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>) atau α-tokoferil asetat (C<sub>31</sub>H<sub>52</sub>O<sub>3</sub>) atau α-tokoferil suksinat (C<sub>33</sub>H<sub>54</sub>O<sub>5</sub>), fitonadion (C<sub>31</sub>H<sub>46</sub>O<sub>2</sub>), dan β-karotin (C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>); tidak kurang 90% dari jumlah yang tertera dalam etiket untuk asam askorbat (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) atau garamnya sebagai kalsium askorbat (C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>CaO<sub>12</sub>·2H<sub>2</sub>O) atau natrium askorbat (C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>NaO<sub>6</sub>), biotin (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S), sianokobalamin (C<sub>63</sub>H<sub>88</sub>CoN<sub>14</sub>O<sub>14</sub>P), asam folat (C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub>), niasin (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>2</sub>), atau niasinamid (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O), kalsium pantotenat (C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>CaN<sub>2</sub>O<sub>10</sub>), piridoksin hidroklorida (C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>·HCl), riboflavin (C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>), dan tiamin (C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>CIN<sub>4</sub>OS) sebagai tiamin hidroklorida atau tiamin mononitrat, untuk kalsium (Ca), tembaga (Cu), besi (Fe), magnesium (Mg), mangan (Mn), fosfor (P), kalium (K), dan seng (Zn); kromium (Cr), fluorin (F), iodium (I), molibdenum (Mo), dan selenium, dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Identifikasi**

Lakukan dengan cara seperti yang tertera pada penetapan kadar.

**Alkohol.** Tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 120% dari jumlah yang tertera pada etiket.

**Catatan.** Dalam penetapan kadar berikut, dimana

lebih dari satu metode penetapan kadar digunakan untuk zat aktif tunggal, persyaratan dipenuhi dengan salah satu metode yang telah ditentukan.

**Penetapan kadar****Vitamin A**

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pelarut.** Campuran dari tetrahidrofuran dan asetonitril (1:1).

**Fase gerak.** Campuran dari metanol, asetonitril, dan n-heksan (46,5 : 46,5 : 7,0). Larutan standar: larutkan dan encerkan standar vitamin A (retinil asetat) dalam pelarut sampai konsentrasi 0,33 mg/ml.

**Larutan kesesuaian sistem.** Larutkan sediaan retinil palmitat dalam n-heksan sampai konsentrasi 15 µg/ml. Campur dengan volume yang sama dengan larutan standar (masing-masing mengandung 7,5 µg retinil asetat/ml dan 7,5 µg retinil palmitat/ml).

**Larutan uji.** Pindahkan sediaan setara 3,3 mg vitamin A kedalam labu pisah - 500 ml yang mengandung 10 ml air dan 20 ml alkohol anhidrat. Tambah 150 ml heksan sumbat dan aduk selama 1 menit. Tambah 150 ml heksan, sumbat dan aduk, diamkan sampai larutan terpisah dan buang lapisan air. Saring lapisan heksan melalui natrium sulfat anhidrat dan masukkan ke dalam labu-500 ml. Uapkan sampai kering menggunakan rotavapor pada suhu 65°C. Tambahkan segera 10 ml pelarut, aduk hingga residu larut dan saring.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 4,6 mm x 25 cm atau yang sesuai, suhu 40°C.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 265 nm.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi antara retinil asetat dan retinil palmitat tidak kurang dari 10; dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 5,0%.

Injek 20 µL larutan standar dan larutan dan ukur area puncak untuk retinil asetat yang diperoleh dari larutan standar serta area puncak untuk retinil asetat atau retinil palmitat dalam kromatogram larutan uji.

Untuk produk mengandung vitamin A asetat atau vitamin A palmitat, Hitung kadar (mg), dari vitamin A sebagai retinil dengan rumus:

$$10 \left( \frac{0,872 C}{V} \right) \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

0,872 = faktor konversi untuk retinil asetat dari standar vitamin A

C = konsentrasi standar vitamin A (mg/ml)

V = volume sediaan larutan uji (ml)

A<sub>S</sub> = area larutan uji

A<sub>Std</sub> = area larutan standar.

**Vitamin D (kolekalsiferol atau ergokalsiferol)**

(Catatan: Gunakan standar vitamin D yang sesuai dengan sediaan).

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pelarut dan fase gerak.** sama seperti untuk penetapan kadar vitamin A.

**Larutan standar.** Larutkan standar kolekalsiferol atau ergokalsiferol dalam n-heksan sampai konsentrasi 5 µg/ml.

**Larutan kesesuaian sistem.** Panaskan sejumlah larutan standar dengan suhu 60° selama 1 jam untuk mendapatkan isomer vitamin D (kolekalsiferol atau ergokalsiferol) sebagai prekursor.

**Larutan uji.** Pindahkan sediaan setara dengan 50 µg kolekalsiferol atau ergokalsiferol ke dalam labu pisah-500 ml yang mengandung 10 ml air dan 20 ml alkohol anhidrat. Tambah 150 ml heksan, sumbat dan aduk selama 1 menit. Tambah 150 ml heksan sumbat dan aduk, diamkan sampai larutan terpisah. Buang lapisan air, dan saring lapisan heksan melalui natrium sulfat anhidrat dan masukkan ke dalam labu 500 ml. Uapkan sampai kering menggunakan rotavapor pada suhu 65°C. Tambahkan segera 10 ml pelarut, aduk sampai residu larut, dan saring.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 4,6 mm x 25 cm atau yang sesuai, suhu 40°C.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 265 nm.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi antara vitamin D yang terbentuk dan prekursor tidak kurang dari 10. dan simpangan baku relatif untuk tidak lebih dari 3%.

Injek 20 µl larutan standar dan larutan uji ke dalam kromatograf dan ukur tinggi puncak vitamin D. Hitung kadar (µg) dari kolekalsiferol atau ergokalsiferol dengan rumus:

$$1,09 \left( \frac{10 C}{V} \right) \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

1,09 = faktor konversi untuk previtamin D dari standar vitamin D

C = konsentrasi standar vitamin D (µg/ml)

V = volume sediaan larutan uji (ml)

A<sub>s</sub> = area larutan uji

A<sub>Std</sub> = area larutan standar.

### Vitamin E

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pelarut.** Campuran dari asetonitril dan etil asetat (1:1).

**Larutan kalium hidroksida.** Larutkan dan encerkan 90 g kalium hidroksida dengan air sampai batas volume 100 ml. Aduk sampai larut, dinginkan.

**Fase gerak.** Campuran dari metanol, asetonitril, dan n-heksan (46,5:46,5:7,0).

**Larutan standar.** Larutkan standar α-tokoferol dengan pelarut dan encerkan sampai diperoleh konsentrasi 0,3 mg/ml.

**Larutan kesesuaian sistem.** Larutkan standar ergokalsiferol dalam metanol sampai konsentrasi 0,65 mg/ml. Pindahkan 1 ml larutan ke dalam labu yang mengandung 100 mg α-tokoferil asetat. Larutkan dengan 30 ml metanol dan aduk. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 1,5 mg α-tokoferol, tambah 25 ml alkohol anhidrat. Refluks kondensor dalam penangas air pada suhu 60°—70°C selama 1 menit. Dengan hati-hati tambahkan 3 ml kalium hidroksida melalui kondensor, lanjutkan refluks selama 30 menit. Keluarkan labu dari penangas air, bilas kondensor dengan 15 ml air. Dinginkan dan pindahkan dengan bantuan sedikit air dalam labu pisah 250 ml. Bilas labu dengan 50 ml n-heksan. Aduk dengan kuat selama 1 menit dan biarkan lapisan terpisah. Alirkan lapisan air ke dalam labu kocok kedua, ulangi proses ekstraksi dengan 50 ml n-heksan. Buang lapisan air dan campurkan lapisan heksan. Bilas fase heksan dengan 25 ml air, biarkan terpisah dan buang lapisan air. Tambahkan 3 tetes asam asetat glasial dan ulangi proses pencucian dua kali atau lebih. Saring fase heksan melalui natrium sulfat anhidrat dan masukan ke dalam labu-250 ml. Bilas corong dan natrium sulfat dengan n-heksan. Uapkan ekstrak heksan sampai kering dengan rotavapor pada suhu 50°C. Segera tambahkan 5 ml pelarut dan aduk sampai residu larut.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 4,6 mm x 25 cm atau yang sesuai, suhu 40°C.

**Laju alir.** 3 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 291 nm.

**Kesesuaian sistem.** Waktu tambat relatif 0,5 untuk ergokalsiferol dan 1,0 untuk α-tokoferil asetat; resolusi antara ergokalsiferol dan α-tokoferil asetat tidak kurang dari 12.

Injeksi 20 µl larutan standar dan larutan uji dan ukur tinggi puncak vitamin E. Hitung kadar (µg) dengan rumus:

$$5 \left( \frac{C}{V} \right) \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi standar α-tokoferol (mg/ml)

V = volume sediaan larutan uji (ml)

A<sub>s</sub> = area larutan uji

A<sub>Std</sub> = area larutan standar.

### Vitamin K (fitonadion)

Lakukan penetapan kadar dengan cara yang tertera pada penetapan kadar dalam vitamin larut air, lemak dan mineral tablet.

### β-Karoten

Lakukan penetapan kadar dengan cara yang tertera pada penetapan kadar dalam vitamin larut air, lemak dan mineral tablet.

### Asam askorbat, kalsium askorbat dan natrium askorbat

Pada sediaan setara dengan 80 mg asam askorbat tambahkan 50 ml air, 100 ml asam sulfat 0,1 M dan 15,0

ml iodium 0,1 M. Aduk selama 30 detik, tambahkan 5 ml kanji, dan segera titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 M sampai warna hilang. Setiap ml iodium 0,1 M setara dengan 8,806 mg  $C_6H_8O_6$  atau setara dengan 10,66 mg  $C_{12}H_{14}CaO_{12} \cdot 2H_2O$  atau setara dengan 9,905 mg  $C_6H_7NaO_6$ .

### Biotin

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada metode 2 dalam vitamin larut lemak, air dan mineral tablet, menggunakan larutan uji: Larutkan dan encerkan sediaan sampai konsentrasi 0,1 µg/ml.
2. Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada metode 3 dalam vitamin larut lemak, air dan mineral tablet, menggunakan larutan uji: Larutkan dan encerkan sediaan sampai diperoleh konsentrasi 0,6 µg/ml. Atur pH 6,0—7,0 dengan natrium hidroksida 0,1 M.

### Vitamin B<sub>12</sub> (sianokobalamin)

Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada metode 2 dalam vitamin larut lemak, air dan mineral tablet, menggunakan larutan uji: Sediaan setara dengan 1,0 µg sianokobalamin dalam bejana yang mengandung 25 ml pelarut segar (setiap 100 ml mengandung 1,29 g dinatrium fosfat, 1,1 g asam sitrat anhidrat dan 1 g natrium metabisulfat).

Masukkan kedalam otoklaf pada suhu 121°C selama 10 menit, jika diperlukan saring atau sentrifus. Encerkan larutan dengan air sampai diperoleh konsentrasi akhir sama dengan larutan standar.

### Asam folat

Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada metode 2 dalam vitamin larut lemak, air dan mineral tablet.

### Kalsium pantotenat

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan penetapan kadar kalsium pantotenat dengan prosedur berikut:

**Asam fosfat encer.** Encerkan 11,8 ml asam fosfat dengan air sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Fase gerak.** Campur 30 ml metanol dengan 970 ml natrium fosfat 0,2 M. Atur pH  $3,2 \pm 0,1$  dengan asam fosfat encer, saring

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar kalsium pantotenat dengan fase gerak sampai konsentrasi 80 µg/ml.

**Kesesuaian sistem.** Larutkan dan encerkan standar rasemik pantenol dengan fase gerak sampai konsentrasi 80 µg/ml. Pindahkan 5,0 ml larutan ini dan encerkan dengan larutan standar sampai batas volume 10 ml, aduk.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan dengan fase gerak sampai konsentrasi 80 µg/ml.

**Kolom.** Oktadesilsilsilil, ukuran 4,6 mm x 10 cm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 210 nm.

Injek larutan kesesuaian sistem. Resolusi antara pantenol dengan kalsium pantotenat tidak kurang 1,5 dan puncak ikutan tidak lebih dari 2. Simpangan baku relatif dari area puncak standar tidak lebih dari 2%.

**Injek.** 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar kalsium pantotenat (mg/ml) menggunakan rumus:

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi standar kalsium pantotenat (mg/ml)

L = jumlah sediaan (mg/ml)

D = konsentrasi sediaan larutan uji (mg/ml)

A<sub>S</sub> = area larutan uji

A<sub>Std</sub> = area larutan standar.

2. Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada metode 2 dalam vitamin larut lemak, air dan mineral tablet, menggunakan larutan uji: Pindahkan sediaan setara dengan 50 mg kalsium pantotenat ke dalam labu 1000 ml yang mengandung 500 ml air. Tambahkan 10 ml asam asetat 0,2 M dan 100 ml natrium asetat (1 dalam 60). Encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml, saring. Jika diperlukan encerkan sampai diperoleh konsentrasi sama dengan standar.

### Dekspantenol atau pantenol

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan seperti dalam penetapan kadar kalsium pantotenat metode 1.

**Asam fosfat encer, fase gerak dan kesesuaian sistem.** Lihat penetapan kalsium pantotenat.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar dekspantenol atau rasemik pantenol dengan fase gerak sampai konsentrasi 80 µg/ml.

**Kesesuaian sistem.** Larutkan dan encerkan standar kalsium pantotenat dengan fase gerak sampai konsentrasi 80 µg/ml. Pindahkan 5,0 ml larutan ini dan encerkan dengan larutan standar sampai batas volume 10 ml, aduk.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan dengan fase gerak sampai konsentrasi 80 µg/ml (dekspantenol).

Injek 20 µL larutan standar dan larutan uji. Hitung kadar dekspantenol (mg/ml) sediaan menggunakan rumus:

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi standar pantotenol (mg/ml)

L = jumlah sediaan (mg/ml)

D = konsentrasi sediaan larutan uji (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area larutan uji

A<sub>Std</sub> = area larutan standar.

- Lakukan penetapan kadar seperti yang tertera pada metode 2 dalam (vitamin larut air kapsul), menggunakan larutan uji: Pindahkan sediaan setara dengan 1,2 mg dekspantenol atau 2,4 mg pantenol kedalam labu, larutkan dan encerkan dengan air sampai diperoleh konsentrasi 1,2 µg dekspantenol atau 2,4 µg pantenol.

### Niasin atau niasinamid

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pelarut.** Larutkan dan encerkan 25 g dinatrium edetat dengan air sampai batas volume 1000 ml, aduk.

**Fase gerak.** Campur 0,4 ml trietilamin, 15,0 ml asam asetat glasial, dan 350 ml metanol. Encerkan dengan natrium 1-heksansulfonat 0,008 M sampai batas volume 2000 ml, dan saring.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar niasin atau niasinamid dengan pelarut sampai diperoleh konsentrasi 0,10 mg/ml.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan dalam pelarut sampai konsentrasi 0,1 mg/ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 4,6 mm x 25 cm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 270 nm.

Injek larutan kesesuaian sistem. Resolusi antara pantenol dengan kalsium pantotenat tidak kurang 1,5 dan puncak ikutan tidak lebih dari 2. Simpangan baku relatif dari area puncak standar tidak lebih dari 2%.

**Injek.** 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar niasin atau niasinamid (mg/ml) sediaan menggunakan rumus:

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi standar niasin (mg/ml)

L = jumlah sediaan (mg/ml)

D = konsentrasi sediaan larutan uji (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area larutan uji

A<sub>Std</sub> = area larutan standar.

### Piridoksin hidroklorida

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pelarut, fase gerak dan sistem kromatografi.** Seperti dalam penetapan kadar niasin atau niasinamid.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar piridoksin hidroklorida dengan pelarut sampai konsentrasi 0,024 mg/ml.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan dengan pelarut sampai konsentrasi piridoksin hidroklorida 0,024 mg/ml.

**Injek.** 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar piridoksin hidroklorida (mg/ml) sediaan menggunakan rumus:

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi standar niasin (mg/ml)

L = jumlah sediaan (mg/ml)

D = konsentrasi sediaan larutan uji (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area larutan uji

A<sub>Std</sub> = area larutan standar.

### Riboflavin atau 5-riboflavin natrium fosfat

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pelarut, fase gerak dan sistem kromatograf.** Seperti penetapan kadar niasin atau niasinamid.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar riboflavin dengan pelarut sampai konsentrasi 8 µg/ml, bila perlu dengan pemanasan.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan dengan pelarut sampai konsentrasi riboflavin 8 µg/ml.

**Injek.** 5 µl larutan standar dan larutan uji.

Waktu tambat relatif untuk 5-riboflavin fosfat sekitar 0,18 dan riboflavin 1,0. Hitung kadar riboflavin (mg/ml) menggunakan rumus:

$$1,493 C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

1,493 = faktor konversi untuk riboflavin-5'-fosfat terhadap riboflavin

C = konsentrasi standar niasin (mg/ml)

L = jumlah sediaan (mg/ml)

D = konsentrasi sediaan larutan uji (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area larutan uji

A<sub>Std</sub> = area larutan standar.

- Lakukan dengan metode fluorometri, menggunakan:

**Blanko.** Pada 1 ml asam hidroklorida 1 M dan 2 ml natrium asetat 2,5 M encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml, aduk.

**Larutan stok standar.** Pada sediaan setara dengan 16 mg standar riboflavin, tambah 1 ml asam



hidroklorida 1 M dan 2 ml natrium asetat 2,5 M encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml, aduk.

**Larutan standar.** Pada 5 ml larutan stok standar riboflavin tambah 5 ml asam hidroklorida 1 M dan 10 ml natrium asetat 2,5 M, encerkan dengan air sampai batas volume 500 ml, dan aduk.

**Larutan uji.** Pindahkan sediaan setara dengan 0,8 mg riboflavin dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml, dan aduk. Pindahkan 10 ml larutan, tambahkan 5 ml asam hidroklorida 1 M dan 10 ml natrium asetat 2,5 M, encerkan dengan air sampai batas volume 500 ml, dan aduk.

Spektrofluorometer pada Em 530 nm dan Ex 440 nm. Hitung kadar riboflavin (mg/ml), dengan rumus:

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

- C = konsentrasi standar niasin (mg/ml)  
 L = jumlah sediaan (mg/ml)  
 D = konsentrasi sediaan larutan uji (mg/ml)  
 A<sub>s</sub> = area larutan uji  
 A<sub>Std</sub> = area larutan standar.

### Tiamin

Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pelarut, fase gerak dan sistem kromatografi.** Lihat penetapan niasin.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar tiamin hidroklorida dengan pelarut sampai konsentrasi 0,024 mg/ml.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan dengan pelarut sampai konsentrasi tiamin hidroklorida 0,024 mg/ml.

**Injek.** 5 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar tiamin hidroklorida (mg/ml) sediaan menggunakan rumus:

$$C \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

- C = konsentrasi standar niasin (mg/ml)  
 L = jumlah sediaan (mg/ml)  
 D = konsentrasi sediaan larutan uji (mg/ml)  
 A<sub>s</sub> = area larutan uji  
 A<sub>Std</sub> = area larutan standar.

**Kalsium, kromium, tembaga, fluorin, iodium, besi, magnesium, mangan, molibdenum, fosfor, kalium, selenium dan seng**

Lakukan dengan metode seperti yang tertera pada vitamin larut lemak, air dan mineral tablet.

### Penyimpanan

Disimpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Vitamin Larut Air, Lemak dan Mineral Kapsul

### Definisi

Vitamin larut air, lemak dan mineral dalam sediaan kapsul mengandung dua atau lebih vitamin larut lemak yaitu: Vitamin A, vitamin D sebagai ergokalsiferol (vitamin D<sub>2</sub>) atau kolekalsiferol (vitamin D<sub>3</sub>), vitamin E, fitonadion (vitamin K<sub>1</sub>), β-karotin; dan satu atau lebih vitamin yang dapat larut dalam air yaitu: asam askorbat atau setara dengan kalsium askorbat atau natrium askorbat, biotin, sianokobalamin, asam folat, niasin atau niasinamid, asam pantotenik (sebagai kalsium pantotenat atau rasemik kalsium pantotenat), piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin hidroklorida atau tiamin mononitrat; dan satu atau lebih mineral dilengkapi dengan satu atau lebih unsur-unsur berikut dalam ionisasi: kalsium, kromium, tembaga, fluorin, iodium, besi, magnesium, mangan, molibdenum, fosfor, kalium, selenium, dan seng serta dapat mengandung zat lain yang tertera dalam etiket dengan jumlah yang akurat.

Kapsul memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan kapsul dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 80,0% dari jumlah yang tertera pada etiket untuk vitamin A (C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O) sebagai retinol atau ester retinol dalam bentuk retinil asetat (C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>) atau retinil palmitat (C<sub>36</sub>H<sub>60</sub>O<sub>2</sub>), vitamin D sebagai kolekalsiferol (C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O) atau ergokalsiferol (C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O), vitamin E sebagai α-tokoferol (C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>) atau α-tokoferil asetat (C<sub>31</sub>H<sub>52</sub>O<sub>3</sub>) atau α-tokoferil suksinat (C<sub>33</sub>H<sub>54</sub>O<sub>5</sub>), fitonadion (C<sub>31</sub>H<sub>46</sub>O<sub>2</sub>), dan β-karotin (C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>); tidak kurang 80,0% dari jumlah yang tertera dalam etiket untuk asam askorbat (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) atau garamnya sebagai kalsium askorbat (C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>CaO<sub>12</sub>·2H<sub>2</sub>O) atau natrium askorbat (C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>NaO<sub>6</sub>), biotin (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S), sianokobalamin (C<sub>63</sub>H<sub>88</sub>CoN<sub>14</sub>O<sub>14</sub>P), asam folat (C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub>), niasin (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>2</sub>), atau niasinamid (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O), kalsium pantotenat (C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>CaN<sub>2</sub>O<sub>10</sub>), piridoksin hidroklorida (C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>·HCl), riboflavin (C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>), dan tiamin (C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>CIN<sub>4</sub>OS) sebagai tiamin hidroklorida atau tiamin mononitrat; kalsium (Ca), tembaga (Cu), besi (Fe), magnesium (Mg), mangan (Mn), fosfor (P), kalium (K), dan seng (Zn); kromium (Cr), fluorin (F), iodium (I), molibdenum (Mo), dan selenium (Se).

### Identifikasi

Lakukan dengan cara seperti yang tertera pada penetapan kadar.

**Keseragaman bobot dan isi.** Memenuhi persyaratan uji keseragaman bobot dan isi.

### Penetapan kadar

#### Vitamin A (retinol)

Lakukan dengan salah satu metode dibawah beriku:

1. Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan:

**Asam sulfat – metanol 3 M.** Tambah dengan hati-hati 9 ml asam sulfat ke dalam 80 ml metanol dalam labu -100 ml. Dinginkan, dan encerkan dengan metanol sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Natrium askorbat-pirogallol.** Pada 10 g natrium askorbat dan 5 g pirogallol, tambah air sampai larut. Tambah 1,7 ml asam sulfat, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Lesitin.** Larutkan dan encerkan 0,5 g lesitin dengan 2,2,4-trimetilpentan sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Fase gerak.** Campuran n-heksan dan etil asetat (99,7:0,3).

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar vitamin A (retinil asetat) dalam 2,2,4-trimetilpentan sampai konsentrasi 15 µg/ml.

**Larutan kesesuaian sistem.** Larutkan sediaan retinil palmitat dalam 2,2,4-trimetilpentan sampai konsentrasi 15 µg/ml. Campur larutan dengan larutan standar sampai masing-masing konsentrasi 7,5 µg retinil asetat/ml dan 7,5 µg retinil palmitat/ml.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 30 µg kolekalkiferol atau ergokalkiferol atau setara dengan 90 mg vitamin E (sebagai α-tokoferol, α-tokoferil asetat, atau α-tokoferil hemisuksinat) atau setara dengan 2,5 mg retinil asetat atau retinil palmitat. Tambah 0,5 g natrium bikarbonat, 1,5 ml lesitin, dan 12,5 ml 2,2,4-trimetilpentan, aduk. Tambah 6 ml larutan natrium askorbat-pirogallol, aduk, dan biarkan larutan sampai gas keluar. Lanjutkan pengadukan sampai evolusi gas habis, aduk kembali selama 12 menit. Tambahkan 6 ml dimetilsulfoksid, aduk sampai terbentuk suspensi, dan aduk selama 12 menit. Tambahkan 6 ml larutan asam sulfat-metanol 3 M, campur sampai terbentuk suspensi, dan aduk selama 12 menit. Tambahkan 12,5 ml 2,2,4-trimetilpentan, aduk sampai terbentuk suspensi, dan kocok selama 10 menit. Sentrifus selama 10 menit untuk memecahkan emulsi dan supernatan menjadi jernih. [supernatan untuk penetapan kadar vitamin A, D dan E]. Jika diperlukan, larutkan supernatan dengan 2,2,4-trimetilpentan sampai diperoleh konsentrasi setara dengan larutan standar.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 325-nm.

**Kolom.** Polimer vinil, 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1,5 m per menit.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi, antara retinil asetat dan retinil palmitat tidak kurang dari 8,0; dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 40 µL larutan standar dan larutan uji dan ukur area puncak untuk retinil asetat yang diperoleh dari larutan standar dan area puncak untuk retinil asetat atau retinil palmitat yang diperoleh dari larutan uji. Hitung kadar (mg) dari vitamin A, sebagai retinol dengan rumus:

$$26,5 \text{ ECD} \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

E = faktor konversi untuk retinil asetat dari vitamin A

0,872 = faktor

C = konsentrasi vitamin A standar (mg/ml)

D = faktor pelarut (ml), digunakan untuk persiapan larutan uji dari supernatan

A<sub>s</sub> = area puncak all-trans retinil ester diperoleh dari larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak all-trans retinil ester diperoleh dari standar.

2. Lakukan dengan kromatografi cair menggunakan:

**Larutan pengekstrak.** Campur n-heksan dan metilen klorida (3:1).

**Kalium hidroksida.** Larutkan 80 g kalium hidroksida dalam 100 ml air, aduk, dan dinginkan.

**Larutan pengencer.** Larutkan 1 g pirogallol dalam alkohol sampai batas volume volume 100,0 ml dan aduk.

**Fase gerak.** Campuran n-heksan dan isopropil-alkohol (92 : 8). Jika diperlukan lakukan penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan sediaan vitamin A dalam larutan pengencer sampai konsentrasi 30 µg/ml. Larutan disimpan dalam lemari pendingin selama 1 minggu.

**Larutan standar.** Encerkan larutan stok standar dengan larutan pengencer sampai konsentrasi 1 µg/ml vitamin A. Pada 10 ml larutan, tambah 5 ml air, 5 ml larutan pengencer dan 3 ml larutan kalium hidroksida. Aduk selama 15 menit di atas penangas air dengan suhu 6°±5°C, dan dinginkan dalam suhu ruang. Tambah 7 ml air dan 25 ml larutan pengekstrak. Aduk selama 60 detik. Bilas labu dengan 60 ml air, biarkan selama 10 menit sampai lapisan terpisah. Larutan standar mengandung 0,34 µg/ml retinol.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 1,5 mg retinil asetat, tambah 5 ml air, 15 ml larutan pengencer dan 3 ml larutan kalium hidroksida. Aduk selama 15 menit di atas penangas air dengan suhu 6° ± 5°C dan dinginkan pada suhu ruang. Tambah 7 ml air dan 25 ml larutan pengekstrak. Aduk selama 60 detik atau lebih. Bilas labu dengan 60 ml air, dan biarkan selama 10 menit sampai lapisan terpisah (jangan dikocok, saat emulsi terbentuk). Encerkan sebagian lapisan organik dengan larutan pengekstrak sampai konsentrasi 0,34 µg/ml (retinol).

**Kolom.** Silika gel, 5 µm, ukuran 8,0 cm x 6,2 mm, atau yang sesuai dengan suhu 40°C.

**Laju alir.** 4 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 335 nm.

Injek 50 µl larutan standar dan larutan uji ke dalam

kromatograf. Hitung kadar (mg), dari vitamin A, sebagai retinol dengan rumus:

$$0,872 CD \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

0,872 = faktor konversi untuk retinil asetat, dari standar vitamin A

C = konsentrasi vitamin A standar (mg/ml)

D = faktor pelarut (ml), digunakan untuk larutan uji

$A_s$  = jumlah area puncak all-trans retinol dan 13-cis retinol yang dari larutan uji

$A_{Std}$  = area puncak all-trans retinil asetat yang diperoleh dari larutan standar.

### Vitamin D (kolekalsiferol atau ergokalsiferol)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campuran n-heksan dan isopropil-alkohol (99 : 1). Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar.** Larutkan standar kolekalsiferol atau ergokalsiferol dalam n-heksan sampai konsentrasi 2 µg/ml.

**Larutan kesesuaian sistem.** Panaskan larutan standar dengan suhu 60° selama 1 jam untuk mendapatkan isomer vitamin D (kolekalsiferol atau ergokalsiferol) sebagai prekursor.

**Larutan uji.** Uapkan 20 ml larutan, yang diperoleh pada penetapan kadar vitamin A (metode 1) sampai konsentrasi 2 µg/ml (kolekalsiferol atau ergokalsiferol).

**Kolom.** Aminopropilsilil 10 µm, ukuran 15 cm x 4,6 mm.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 265 nm.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi antara vitamin D yang terbentuk dan prekursor tidak kurang dari 10; dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

**Injek.** 100 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dari kolekalsiferol atau ergokalsiferol dengan rumus:

$$1,09 CD \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

1,09 = faktor koreksi untuk menghitung jumlah previtamin D yang ada dalam sediaan

C = konsentrasi kolekalsiferol dan ergokalsiferol pada larutan standar (µg/ml)

D = faktor pelarut (ml) untuk larutan uji

$A_s$  = area puncak larutan uji

$A_{Std}$  = area puncak larutan standar.

2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Asam sulfat-metanol 3 M.** Tambah dengan hati-hati 9 ml asam sulfat dalam 80 ml metanol. Dinginkan, dan encerkan dengan metanol sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Natrium askorbat-pirogallol.** Pada 10 g natrium askorbat dan 5 g pirogallol, tambah air sampai larut. Tambah 1,7 ml asam sulfat, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Lesitin.** Larutkan dan encerkan 0,5 g lesitin dengan 2,2,4-trimetilpentan sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Fase gerak.** Campur n-heksan dan butanol (98,75: 1,25). Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem (kromatografi)).

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar kolekalsiferol atau standar ergokalsiferol dalam 2,2,4-trimetilpentan sampai konsentrasi 1 µg/ml.

**Larutan kesesuaian sistem.** Panaskan larutan standar pada suhu 60° selama 1 jam untuk mendapatkan isomer vitamin D (kolekalsiferol atau ergokalsiferol) sebagai prekursor.

**Kolom.** Polimer vinil gel, 5-µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi antara vitamin D yang terbentuk dan prekursor tidak kurang dari 10; dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

**Injek.** 100 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dari kolekalsiferol atau ergokalsiferol dengan rumus:

$$26,5 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi kolekalsiferol atau ergokalsiferol larutan standar (µg/ml)

$A_s$  = area puncak larutan uji

$A_{Std}$  = area puncak larutan standar.

3. Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan:

**Asam asetat encer.** Encerkan 10 ml asam asetat glasial dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan fenolftalein.** Fenolftalein (1 g per 100 ml alkohol).

**Larutan kalium hidroksida-alkohol.** Larutkan 14 g kalium hidroksida dalam campuran 31 ml alkohol anhidrat dan 5 ml air. Larutan harus segar.

**Larutan pengekstrak.** Campuran metilen klorida dan isopropil alkohol (99,8:0,2).

**Fase gerak.** Cambur asetonitril dan metanol (91:9). Jika diperlukan, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan kolekalsiferol atau ergokalsiferol dalam alkohol anhidrat sampai

konsentrasi 0,2 mg/ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan standar.** [Kondisikan kolom ekstraksi fasa-padat dengan cara bilas kolom dengan 4 ml campuran metilen klorida dan isopropil alkohol (80 : 20), kemudian dengan 5 ml larutan pengeksrak. Jangan biarkan kolom kering]. Encerkan larutan stok standar dengan alkohol anhidrat sampai konsentrasi 5 µg/ml. Pada 2 ml larutan, tambah 15 ml air dan 15 ml larutan kalium hidroksida-alkohol, sumbat, aduk selama 30 menit dalam penangas air 60°C. Dinginkan pada suhu ruang dan pindahkan ke dalam labu pisah-250 ml. Tambah 15 ml air, aduk dan pindahkan larutan ke dalam labu pisah kedua, tambah 60 ml n-heksan dan aduk selama 15 menit. Buang lapisan air. Pada fase heksan, tambah 1 tetes fenolftalein, 15 ml air, dan asam asetat encer perlahan-lahan sampai netral. Biarkan selama 10 menit sampai lapisan terpisah dan buang lapisan air. Saring fase heksan dengan natrium sulfat anhidrat ke dalam botol 100 ml. Bilas penyaring dengan n-heksan dan campur hasil bilasan dalam botol yang sama. Uapkan fase heksan dengan rotavapor pada suhu 50°C sampai kering. Larutkan residu dengan 2 ml larutan pengeksrak dan alirkan ke dalam kolom silika ekstraksi fasa-padat (*solid phase extraction silica*). Elusi kolom dengan 10 ml larutan pengeksrak dan buang 1 ml eluat pertama, kemudian tampung eluat berikutnya. Hangatkan di atas penangas air pada suhu 42°C dan uapkan dengan aliran nitrogen. Larutkan residu dengan 2 ml asetonitril.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 10 µg kolekalsiferol atau ergokalsiferol, lakukan dengan cara yang sama seperti larutan standar, dimulai dengan ".....menambahkan 15 ml air dan 15 ml larutan kalium hidroksida-alkohol ....."

**Kolom.** Oktadesilsilil 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu kolom 27°C.

**Laju alir.** 0,7 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 265 nm.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi antara vitamin D yang terbentuk dan prekursor tidak kurang dari 10. dan simpangan baku relatif untuk tidak lebih dari 4%.

Injek 15 µl larutan standar dan larutan uji. Hitung kadar (µg) dari kolekalsiferol atau ergokalsiferol dengan rumus:

$$1,09 (2C) \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

1,09 = faktor-koreksi untuk menghitung jumlah previtamin D

C = konsentrasi larutan standar (µg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar.

### Vitamin E (α-tokoferol, α-tokoferil asetat, atau α-tokoferil suksinat)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Encerkan 10 ml asam fosfat dengan air sampai batas volume 1000 ml (larutan A). Campur metanol dan larutan A (95:5). Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar.** Larutkan sediaan α-tokoferol, α-tokoferil asetat, atau α-tokoferil suksinat dalam metanol sampai kosenstrasi 2 mg/ml.

**Larutan kesesuaian sistem.** Larutkan standar ergokalsiferol dalam metanol sampai konsentrasi 0,65 mg/ml. Pindahkan 1 ml larutan ke dalam labu yang mengandung 100 mg α-tokoferil asetat. Larutkan dengan 30 ml metanol dan aduk. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan uji.** Uapkan 20 ml larutan (yang diperoleh pada penetapan vitamin A, metode 1) pada suhu ruang dengan vakum sampai kering. Larutkan dan encerkan residu dengan metanol sampai konsentrasi 2 mg/ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5 µm, 10 cm x 8 mm.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Kesesuaian sistem.** Waktu tambat relatif 0,5 untuk ergokalsiferol dan 1,0 untuk α-tokoferil asetat; resolusi antara ergokalsiferol dan α-tokoferil asetat tidak kurang dari 12; dan faktor tailing antara 0,8 dan 1,2. Simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injeks 100 µl larutan standar dan larutan uji. Hitung kadar (µg) dengan rumus:

$$CD \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi standar (mg/ml)

D = faktor pelarut (ml) untuk larutan uji

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar.

2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campur 240 ml metanol, 10 ml air, 0,5 ml asam fosfat 50%, encerkan dengan asetonitril sampai batas volume 1000 ml, aduk dan saring. Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan kesesuaian sistem.** Larutkan dan encerkan sediaan α-tokoferol, α-tokoferil asetat, dan α-tokoferil suksinat dalam metanol sampai konsentrasi 2 mg/ml.

**Larutan standar.** Larutan dan encerkan standar α-tokoferol, α-tokoferil asetat, atau α-tokoferil suk-

sinat dalam metanol sampai konsentrasi 2 mg/ml.

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam penetapan vitamin A, metoda 2. Pindahkan supernatant 2,2,4-trimetilpentan ke dalam labu sampai konsentrasi setara dengan larutan standar. Uapkan sampai kering, tambah metanol, dan uapkan sisa 2,2,4-trimetilpentan. Encerkan dengan metanol dan aduk.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5  $\mu\text{m}$ , 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

**Kesesuaian sistem.** Waktu tambat relatif 0,6 untuk  $\alpha$ -tokoferil suksinat, 0,8 untuk  $\alpha$ -tokoferol, dan 1,0 untuk  $\alpha$ -tokoferil asetat, berturut-turut; resolusi antara  $\alpha$ -tokoferil suksinat dan  $\alpha$ -tokoferol tidak kurang dari 4,0; dan resolusi antara  $\alpha$ -tokoferol serta  $\alpha$ -tokoferil asetat tidak kurang dari 3,0. Simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 25  $\mu\text{l}$  larutan standar dan larutan uji. Hitung kadar ( $\mu\text{g}$ ) dengan rumus:

$$26,5 \text{ CD} \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi standar (mg/ml)

D = faktor pelarut sebagai pengganti pelarut 2,2,4-trimetilpentan menjadi metanol

$A_s$  = area puncak larutan uji

$A_{Std}$  = area puncak larutan standar

[Ekstraksi awal pada 26,5 ml 2,2,4-trimetilpentan telah dibukukan dalam rumus] Hitung  $\alpha$ -tokoferol setara dengan  $\alpha$ -tokoferil asetat atau  $\alpha$ -tokoferil suksinat dengan cara mengalikan jumlah (mg), oleh faktor 0,91 atau 0,81.

- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pelarut.** Campuran asetonitril dan etil asetat (1:1).

**Fase gerak.** Campuran metanol, asetonitril, dan n-heksan (46,5:46,5:7,0). Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar.** Larutan dan encerkan standar  $\alpha$ -tokoferol,  $\alpha$ -tokoferil asetat, atau  $\alpha$ -tokoferil suksinat dalam metanol sampai konsentrasi 0,3 mg/ml.

**Larutan uji.** Sediaan setara dengan 8 mg  $\alpha$ -tokoferol, ke dalam labu-125 ml. Tambah 25 ml air, 25 ml alkohol dehidrat dan 3,5 g kalium hidroksida. Aduk selama 1 jam dalam penangas air 55°C, dinginkan, dan pindahkan dengan bantuan 50 ml n-heksan ke dalam labu pisah-125 ml dan kocok selama 60 detik sampai lapisan terpisah. Pindahkan lapisan air ke dalam labu pisah-250 ml kedua, dan ulangi ekstraksi dengan 50 ml n-heksan. Buang lapisan air dan gabungkan ekstrak heksan. Bilas ekstraksi dengan 25 ml air sampai lapisan terpisah, dan buang lapisan air. Tambah 3 tetes asam asetat glisial

dan ulangi prosedur pembilasan sebanyak 2 kali. Saring hasil bilasan lapisan heksan dengan natrium sulfat anhidrat ke dalam botol-250 ml. Bilas corong dan natrium sulfat dengan n-heksan dan tambah hasil bilasan ke dalam larutan heksan dalam botol. Uapkan larutan heksan dalam penangas air pada suhu 50°C sampai kering. Segera tambah 25,0 ml pelarut dan aduk sampai residu larut.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 40°C.

**Laju alir.** 3 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 291 nm.

**Simpangan baku relatif.** Tidak lebih dari 5%.

**Injek.** 20  $\mu\text{l}$  larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar ( $\mu\text{g}$ ) dengan rumus:

$$25 \text{ C} \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi standar (mg/ml)

$A_s$  = area puncak larutan uji

$A_{Std}$  = area puncak larutan standar

#### Vitamin K<sub>1</sub> (fitonadion)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campuran metanol dan air (95:5). Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan sediaan dalam metanol sampai konsentrasi 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (fitomenadion), jika perlu dengan bantuan sonikasi.

**Larutan standar.** Encerkan 10 ml larutan stok standar dengan metanol sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Larutan kesesuaian sistem.** Larutkan 65 mg  $\alpha$ -tokoferil asetat dengan 75 ml metanol, tambah 10 ml larutan stok standar, encerkan dengan metanol sampai batas volume 100 ml.

**Larutan uji.** Uapkan 20 ml larutan (yang diperoleh pada penetapan vitamin A, metode 1), pada suhu ruang dengan vakum sampai mendekati kering. Larutkan dan encerkan residu dengan metanol sampai konsentrasi fitomenadion 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

**Kolom.** Oktadesilsilil 5  $\mu\text{m}$ , ukuran 10 cm x 8 mm.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi antara  $\alpha$ -tokoferil asetat dan fitonadion tidak kurang dari 5. Waktu retensi relatif 0,68 untuk  $\alpha$ -tokoferil asetat dan 1,0 untuk fitonadion dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 100 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus:

$$C(LD) \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi standar sediaan (µg/ml)

L = jumlah fitomenadion pada sediaan (µg)

D = konsentrasi fitomennadion dalam larutan uji (µg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar.

2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pelarut.** Campuran metanol dan isopropanol (95:5).

**Fase gerak.** Campuran 800 ml metanol, 200 ml metilen klorida, 0,1 ml asam asetat glasial, 1,36 g seng klorida, dan 0,41 g natrium asetat.

**Larutan standar internal.** Larutan menakuinon 4 (vitamin K<sub>2</sub>) dalam pelarut sampai konsentrasi 5 µg/ml. [Stok larutan menakuinon 4 (100 µg/ml) dapat disimpan selama 2 bulan dalam lemari pendingin].

**Larutan stok standar.** Larutkan sediaan fitonadion dalam metilen klorida dengan bantuan sonikasi. Encerkan dengan pelarut sampai konsentrasi 5 µg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan 1 ml larutan stok standar dan 1 ml larutan standar internal dengan pelarut sampai volume 5,0 ml dan aduk. Saring dengan membran 0,45 µm atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 50 µg fitonadion, tambah 4 ml air, sumbat, dan aduk. Tempatkan tabung dalam penangas air pada suhu 60°C selama 5 menit. Buang rendaman dan aduk selama 1 menit biarkan larutan tetap panas. Tambah 8 ml alkohol dan aduk. Tempatkan tabung dalam penangas air pada suhu 60°C selama 5 menit. Buang rendaman, dan aduk selama 2 menit biarkan larutan tetap panas. Dinginkan pada suhu ruang. Encerkan dengan larutan standar internal setara dengan 5 µg/ml fitonadion. Tambah 20 ml petroleum benzin dan sumbat. Aduk selama 15 menit. Sentrifus untuk memisahkan kedua lapisan. Pindahkan lapisan atas dari petroleum benzin setara dengan 5–50 µg fitonadion ke dalam labu. Uapkan tabung dalam penangas air pada suhu 35°–45°C dengan aliran nitrogen sampai lemak residu hilang. Larutkan residu dalam pelarut sampai konsentrasi 1 µg/ml fitomenadion.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Pasca kolom.** Serbuk seng, ukuran 3 cm x 4,6 mm atau yang sesuai. [Siapkan reaktor paska kolom jika diperlukan atur kesesuaian sistem.]

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Fluorometer pada panjang Ex. 320 nm untuk Em. 420 nm.

**Kesesuaian sistem.** Waktu tambat relatif 1,0 untuk standar internal dan 1,4 untuk fitonadion; efisiensi kolom untuk puncak fitonadion tidak kurang dari 2500 plat teoritis; faktor tailing untuk puncak fitonadion tidak lebih dari 1,5; dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 25 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus:

$$SCD \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi standar (µg/ml)

D = volume larutan standar internal yang digunakan untuk larutan uji (ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

### β-Karoten

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan kalium hidroksida.** Larutkan 58,8 g kalium hidroksida dalam air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan iodium.** Larutkan 10 mg iodium dengan sikloheksan dan aduk. Encerkan 10 ml larutan dengan sikloheksan sampai batas volume 100 ml dan aduk. Larutan harus segar.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 2 mg β-karoten, tambah 100 ml alkohol, 6 ml larutan kalium hidroksida dan aduk. Panaskan dengan refluks kondensor selama 45 menit. Dinginkan pada suhu ruang, tambah 170 ml larutan heksan dan aduk selama 30 menit. Biarkan selama 10 menit. Pindahkan lapisan organik ke dalam labu 500 ml. Pada lapisan air, tambah 170 ml heksan dan aduk selama 20 menit. Biarkan selama 10 menit. Buang lapisan air dan campur lapisan organik. Pada fase organik, tambah 3 g natrium sulfat anhidrat dan aduk. Pindahkan larutan setara dengan 100 µg β-karoten ke dalam labu -50 ml. Uapkan dengan aliran nitrogen sampai kering dan segera tambah sikloheksan. Tambah 2 ml larutan iodium dan panaskan selama 15 menit dalam penangas air pada suhu 65°C. Dinginkan dan encerkan dengan sikloheksan, aduk. Ukur serapan pada panjang gelombang maksimum 452 nm. Hitung kadar (mg) dengan rumus:

$$LD \left( \frac{A_s}{223} \right)$$

Keterangan:

L = jumlah β-karoten pada sediaan (mg)

D = konsentrasi β-karoten pada larutan uji (mg/ml)

A<sub>s</sub> = serapan larutan uji

223 = serapan β-karoten pada panjang gelombang 452 nm

**Asam askorbat, kalsium askorbat dan natrium askorbat**

Pada sediaan setara dengan 100 mg asam askorbat, tambah 75 ml asam metafosfat asetat. Sumbat dan aduk selama 30 menit. Encerkan dengan air dan aduk. Sentrifus sampai supernatan. Pada 4 ml larutan, tambah 5 ml asam metafosfat-asetat dan titrasi dengan larutan standar diklorofenol-indofenol sampai warna merah muda tetap selama 5 detik. Standarisasi larutan diklorofenol-indofenol dengan campuran 5,5 ml asam metafosfat-asetat dan 15 ml air.

**Vitamin H (biotin)**

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan sediaan setara dengan 1 mg biotin dalam 3 ml dimetil sulfoksid, hangatkan di atas penagas air pada suhu 60°—70°C selama 5 menit. Sonikasi selama 5 menit dan encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 67 mg standar biotin dalam dimetilsulfoksid sampai batas volume 200 ml. Encerkan larutan dengan air sampai konsentrasi 5 µg/ml.

**Kolom.** Oktilsilil, 3-µm ukuran 15 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 85 ml asetonitril, 1 g natrium perklorat, dan 1 ml asam fosfat, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml, aduk, saring. Jika perlu buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Laju alir.** 1,2 ml/menit

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 200 nm.

**Sistem kromatografik.** Simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 100 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus:

$$200 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi biotin pada larutan standar (µg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar.

2. Lakukan dengan metode mikrobiologi menggunakan:

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan standar biotin dalam alkohol 50% sampai konsentrasi 50 µg/ml dan aduk. Simpan larutan dalam lemari pendingin.

**Larutan standar.** Encerkan stok standar dengan air sampai konsentrasi 0,1 ng/ml.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 100 µg biotin, tambah 3 ml alkohol 50%, dan aduk. Panaskan dalam penangas air pada suhu 70°C selama 5 menit. Sonikasi selama 5 menit, encerkan dengan alkohol 50% sampai batas volume 200 ml dan saring. Encerkan larutan dengan air sampai konsentrasi 0,1 ng/ml.

**Larutan asam-kasein hidrolisat.** Campurkan 100 g vitamin bebas kasein dengan 500 ml asam hidroklorida 6M dan refluks selama 8—12 jam. Suling dengan pengurangan tekanan (untuk menghilangkan asam hidroklorida) sampai terbentuk pasta. Larutkan pasta dalam air, atur pH 3,5 ± 0,1 dengan natrium hidroksida 1M dan tambah air sampai batas volume 1000 ml. Tambah 20 g arang aktif, aduk selama 1 jam dan saring ke dalam botol. Ulangi proses dengan arang aktif. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak lebih dari 10°C.

**Larutan sistin-triptofan.** Suspensikan 4,0 g L-sistin dalam 1,0 g L-triptofan (atau 2,0 g D,L-triptofan) dalam 700 ml air, panaskan pada suhu 70°—80°C, dan tambah secara perlahan larutan asam hidroklorida (1 dalam 2), aduk. Dinginkan dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak lebih dari 10°C.

**Larutan urasil-guanin-adenin.** Larutkan 200 mg adenin sulfat, guanin hidroklorida, dan urasil dalam 10 ml asam hidroklorida 4M sambil dipanaskan, dinginkan, dan tambah air sampai batas volume 200 ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan polisorb 80.** Larutkan dan encerkan 25 g polisorb 80 dalam alkohol sampai batas volume 250 ml.

**Larutan kalsium pantotenat.** Larutan kalsium pantotenat dalam alkohol 50% yang mengandung 10 µg/ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan riboflavin-tiamin hidroklorida.** Larutan riboflavin dan tiamin hidroklorida dalam asam asetat 0,02 M yang mengandung 20 µg/ml riboflavin dan 10 µg/ml tiamin hidroklorida. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak lebih 10°C.

**Larutan asam p-aminobenzoat-niasin-piridoksin hidroklorida.** Campuran air dan alkohol netral (3:1) yang mengandung 10 µg/ml asam p-aminobenzoat, 50 µg/ml niasin dan 40 µg/ml piridoksin hidroklorida. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan garam 1.** Larutkan dan encerkan 25 g kalium fosfat dan 25 g dikalium fosfat dalam air sampai batas volume 500 ml. Tambah 5 tetes asam hidroklorida dan aduk. Simpan botol dalam toluen.

**Larutan garam 2.** Larutkan dan encerkan 10 g magnesium sulfat, 0,5 g natrium klorida, 0,5 g besi sulfat dan 0,5 g mangan sulfat dalam air sampai batas volume 500 ml. Tambah 5 tetes asam hidroklorida dan aduk. Simpan botol dalam toluen.

**Larutan basal stok medium.** Campur 25 ml larutan asam kasein hidrolisat, 25 ml larutan

sistin-triptofan, 0,25 ml larutan polisorbate 80, 10 g dekstrosa anhidrat, 5 g natrium asetat anhidrat, 5 ml larutan urasil-guanin-adenin, 5 ml larutan kalsium pantotenat, 5 ml larutan riboflavin-tiamin hidroklorida, 5 ml larutan asam p-aminobenzoat-niasin-piridoksin hidroklorida, 5 ml larutan garam (1), 5 ml larutan garam (2), atur pH  $6,8 \pm 0,1$  dengan natrium hidroksida 1 M dan encerkan dengan air sampai batas volume 250 ml.

**Stok kultur *Lactobacillus plantarum*.** Larutkan 2 g sari ragi dalam 100 ml air, tambah 500 mg dekstrosa anhidrat, 500 mg natrium asetat anhidrat dan 1,5 g agar. Panaskan campuran di atas penangas air dengan pengadukan sampai agar larut. Pindahkan 10 ml larutan panas pada tabung uji, sumbat, sterilkan dalam otoklaf  $121^{\circ}\text{C}$  dan biarkan tabung sampai dingin dalam posisi tegak lurus. Siapkan kultur pada tiga atau lebih tabung, gunakan kultur murni *Lactobacillus plantarum*, inkubasi selama 16–24 jam pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$ – $37^{\circ}\text{C}$  dan tetap pada suhu  $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Simpan dalam lemari pendingin. Siapkan stok kultur segar setiap minggunya dan jangan gunakan untuk inokulum jika kultur lebih dari 1 minggu.

**Medium kultur.** Setiap tabung uji mengandung 5 ml larutan basal stok medium, tambah 5 ml air yang mengandung 0,5 mg biotin. Sumbat dengan katun, sterilkan dengan otoklaf  $121^{\circ}\text{C}$  dan dinginkan.

**Inokulum.** [Suspensi beku *Lactobacillus plantarum* dapat digunakan sebagai stok kultur untuk menghasilkan inokulum yang sebanding dengan kultur segar]. Pindahkan secukupnya dari stok kultur *Lactobacillus plantarum* ke dalam tabung steril yang mengandung 10 ml medium kultur. Inkubasi pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$ – $37^{\circ}\text{C}$  selama 16–24 jam.

**Prosedur.** Siapkan enam tabung, tambah larutan standar ke setiap tabung yang berbeda masing-masing 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0 dan 5,0 ml. Pada setiap tabung dan empat tabung kosong lain, tambah 5 ml larutan basal stok medium dan air sampai volume 10 ml. Pada empat tabung yang kosong, tambahkan larutan uji 2–3 kali larutan standar termasuk 2,0; 3,0; dan 4,0 ml. Pada setiap tabung, tambah 5 ml larutan basal stok medium dan air sampai volume 10 ml. Sumbat semua tabung, sterilkan pada otoklaf  $121^{\circ}\text{C}$  selama 5 menit. Dinginkan, tambah 1 tetes inokulum pada setiap tabung, kecuali dua dari empat tabung tidak mengandung larutan standar (blanko) dan aduk. Inkubasi pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$ – $37^{\circ}\text{C}$  selama 16–24 jam inkubasi. Dalam 2 jam pertama tidak terjadi kekeruhan dalam tabung yang mengandung standar dengan konsentrasi paling tinggi.

Ukur %T masing-masing tabung dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540–660 nm.

Perhitungan: Lakukan perhitungan dengan bantuan kurva konsentrasi-respon (%T) atau dengan bantuan program yang tersedia pada peralatan.

3. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Dapar.** Pada 800 ml air dan 100 ml tritilamin, tambah 80 ml asam fosfat 85%, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml dan aduk.

**Fase gerak.** Pada 80 ml asetonitril dan 10 ml dapar, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml, aduk dan saring. Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 25 mg standar biotin dengan air sampai batas volume 250 ml dan aduk. Pada 1,5 ml larutan, encerkan dengan air sampai konsentrasi  $0,6 \mu\text{g/ml}$  biotin. [Gunakan sebagian larutan standar untuk penentuan angka temuan kembali pada prosedur ekstraksi fasa-padat (*solid phase extraction*)].

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan setara dengan  $60 \mu\text{g}$  biotin dengan air (jika perlu sonikasi selama 30–40 menit) sampai batas volume 100 ml dan saring. Atur pH 6,0–7,0 dengan asam asetat atau natrium hidroksida 0,1 M.

**Ekstraksi fasa-padat (*solid-phase extraction*).** Sebelum digunakan, bilas kolom dengan 2 ml metanol. Ekuilibrasikan dengan 2 ml air]: Pipet masing-masing 5 ml larutan uji dan larutan standar ke dalam kolom ekstraksi fasa-padat yang berbeda (mengandung penukar ion dan fase terbalik kopolimer N-vinilpirolidon dan divinilbenzen). Bilas kolom dengan 10 ml metanol (30% v/v). Alirkan sekita 4,9 ml pada metanol (30% v/v dalam asam hidroklorida 0,1 M) ke dalam kolom. Campur eluat ke dalam labu ukur-5 ml, yang mengandung  $100 \mu\text{l}$  natrium asetat (40% v/v) dan encerkan dengan metanol (30% v/v dalam asam hidroklorida 0,1 M) sampai volume 5,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 atau yang sesuai.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 200 nm.

**Kesesuaian sistem.** Faktor tailing tidak lebih dari 1,5; dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 2%.

Injeksi  $100 \mu\text{l}$  larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar ( $\mu\text{g}$ ) dengan rumus:

$$100 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi biotin dalam larutan standar ( $\mu\text{g/ml}$ )

$A_s$  = area puncak larutan uji

$A_{Std}$  = area puncak larutan standar

### Vitamin B<sub>12</sub> (sianokobalamin)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campuran air dan metanol (65:35).



Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar.** Larutkan standar sianokobalamin dalam air sampai konsentrasi 10 µg/ml. Encerkan stok larutan dengan air sampai konsentrasi 1 µg/ml.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan setara 100 µg sianokobalamin dengan air sampai batas volume 250 ml. Saring dan gunakan hasil saringan.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5 µm, ukuran 15 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 0,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm.

**Kesesuaian sistem.** Simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 200 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus:

$$100 C \left( \frac{A_s}{A_{std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi sianokobalamin dalam larutan standar (µg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>std</sub> = area puncak larutan standar

- Lakukan dengan metode mikrobiologi menggunakan:

**Larutan stok standar sianokobalamin.** Larutkan standar sianokobalamin dalam alkohol 25% sampai konsentrasi 1 µg/ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan standar.** Encerkan larutan stok standar sianokobalamin dengan air sampai konsentrasi 0,01 dan 0,04 ng/ml. Larutan harus segar.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 1,0 µg sianokobalamin, tambah 25 ml larutan pengekstrak (yang mengandung 1,29 g natrium fosfat dibasa, 1,1 g asam sitrat anhidrat dan 1 g natrium metabisulfid dalam 100 ml), otoklaf pada suhu 121°C selama 10 menit. Saring atau sentrifus jika diperlukan. Encerkan hasil saringan atau supernatan dengan air sampai konsentrasi antara 0,01 dan 0,04 ng/ml.

**Larutan asam kasein-hidrolisat.** Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar kalsium pantotenat, metode 2.

**Larutan asparagin.** Larutkan dan encerkan 2,0 g L-asparagin dalam air sampai batas volume 200 ml. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan adenin-guanin-urasil.** Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar kalsium pantotenat, metode 2.

**Larutan xantin.** Larutkan 0,2 g xantin dalam sekitar 30 ml air, panaskan pada suhu 70°C, tambah 6 ml amonium hidroksida 6M dan aduk sampai larut. Dinginkan dan tambah air sampai batas volume 200 ml. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan garam 1.** Larutkan dan encerkan 10 g kalium fosfat monobasa dan 10 g kalium fosfat dibasa dalam air sampai batas volume 200 ml dan tambah 2 tetes asam hidroklorida. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan garam 2.** Larutkan 4 g magnesium sulfat, 0,2 g natrium klorida, 0,2 g besi sulfat dan 0,2 g mangan sulfat dalam air sampai batas volume 200 ml dan tambah 2 tetes asam hidroklorida. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan polisorbit 80.** Larutkan dan encerkan 20 g polisorbit 80 dalam alkohol sampai batas volume 200 ml. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan vitamin 1.** Larutkan dan encerkan 10 mg riboflavin, 10 mg tiamin hidroklorida, 100 µg biotin dan 20 mg niasin dalam asam asetat glasial 0,02M sampai volume 400 ml. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan vitamin 2.** Larutkan dan encerkan 20 mg asam p-aminobenzoat, 10 mg kalsium pantotenat, 40 mg piridoksin hidroklorida, 40 mg piridoksal hidroklorida, 8 mg piridoksamin dihidroklorida dan 2 mg asam folat dalam campuran air dan alkohol netral (3:1) sampai volume 400 ml. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan basal stok medium.** Larutkan bahan-bahan di bawah ini dalam asam hidroklorida secukupnya sampai larut. Tambah 100 ml air, aduk dan larutkan dekstrosa, natrium asetat dan asam askorbat. Saring, jika diperlukan, tambah larutan polisorbit 80. Atur pH 5,5—6,0 dengan natrium hidroksida 1 M dan tambah air murni sampai batas volume 250 ml.

**Komposisi medium.** Campur 0,1 g L-sistin, 0,05 g L-triptofan, 10 ml asam hidroklorida 1 M, 5 ml larutan adenine-guanin-urasil, 5 ml larutan xantin, 10 ml larutan vitamin 1, 10 ml larutan vitamin 2, 5 ml larutan garam (1), 5 ml larutan garam (2), 5 ml larutan asparagin, 25 ml larutan asam kasein-hidrolisat, 10 g dekstrosa anhidrat, 5 g natrium asetat anhidrat, 1 g asam askorbat dan 5 ml larutan polisorbit 80.

**Jus tomat.** Sentrifus jus tomat yang dijual secara komersial sampai kotoran hilang. Saring sampai diperoleh sampai diperoleh hasil saringan berwarna kekuning-kuningan. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Medium kultur.** Larutkan 0,75 g sari ragi, 0,75 g pepton, 1 g dekstrosa anhidrat dan 0,2 g kalium fosfat monobasa dalam sekitar 60 ml air. Tambah 10 ml jus tomat dan 1 ml larutan polisorbit 80. Atur pH 6,8 dengan natrium hidroksida 1 M dan tambah air sampai batas volume 100 ml. Pindahkan 10 ml larutan dalam tabung uji dan sumbat dengan katun. Sterilkan dengan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan dengan cepat untuk menghindari perbuahan warna yang dihasilkan dari medium yang terlalu panas.

**Suspensi medium.** Encerkan larutan basal stok medium dengan air dengan volume yang sama. Pindahkan 10 ml medium ke dalam tabung uji. Sterilkan dengan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan dengan cepat untuk menghindari perbuahan warna yang dihasilkan dari medium yang terlalu panas.

**Stokkultur *Lactobacillus leichmannii*.** Inokulasikan *Lactobacillus leichmannii* ke dalam 10 ml medium kultur yang steril (mengandung 1–1,5 g agar/100 ml). Inkubasi pada suhu 30°–40°C selama 16–24 jam. Simpan dalam lemari pendingin. Gunakan stok kultur yang segar untuk penetapan kadar.

**Inokulum.** [Suspensi beku *Lactobacillus leichmannii* atau *Lactobacillus plantarum* dapat digunakan sebagai stok kultur untuk menghasilkan inokulum yang sebanding dengan kultur segar]. Pindahkan secukupnya dari stok kultur *Lactobacillus leichmannii* ke dalam tabung steril yang mengandung 10 ml medium kultur. Inkubasi pada suhu 40°C selama 16–24 jam. Suspensikan biakan dalam 5 ml suspensi medium steril dan campur. Atur volume dengan garam fisiologis sehingga campuran 1 berbanding 20 mempunyai nilai %T = 70% pada panjang gelombang 530 nm, larutan garam fisiologis sebagai blanko. Encerkan larutan sampai 1 berbanding 400 menggunakan larutan stok basal medium.

**Prosedur.** Pada tabung terpisah, tambah masing-masing 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0; dan 5,0 ml larutan standar. Pada setiap tabung tersebut dan empat tabung lain, tambah 5,0 ml larutan stok basal medium dan air sampai volume 10 ml. Pada tabung yang terpisah, tambah 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 dan 4,0 ml larutan uji. Pada setiap tabung tersebut dan empat tabung lain, tambah 5,0 ml larutan stok basal medium dan air sampai volume 10 ml. Sterilkan tabung dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 5 menit. Tambah 0,5 ml inokulum pada setiap tabung yang telah disiapkan, kecuali dua tabung untuk blanko. Inkubasi pada suhu 30°–40°C selama 16–24 jam. Panaskan tabung pada suhu 80°C selama 5 menit. Dinginkan pada suhu ruang.

Ukur %T dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm selama 30 detik.

**Perhitungan.** Lakukan perhitungan dengan bantuan kurva konsentrasi-respon (%T) atau dengan bantuan program yang tersedia pada peralatan.

### Asam folat

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pereaksi (1).** Larutan tetrabutylamonium hidroksida 25% dalam metanol.

**Pereaksi (2).** Larutkan dan encerkan 5 g asam pen-tetat dalam natrium hidroksida 1 M sampai batas volume 50 ml.

**Fase gerak.** Larutkan 2 g kalium fosfat monobasa dalam 650 ml air. Tambah 12 ml pereaksi (1), 7 ml asam fosfat 3 M dan 240 ml metanol. Dinginkan pada suhu ruang, atur pH 7,15 dengan asam fosfat dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml, aduk dan saring. [Periksa kembali pH sebelum digunakan, jika diperlukan buat penyesuaian kandungan metanol dan air (1%–3%) pada fase gerak untuk memperoleh pemisahan dan garis dasar asam folat dan standar internal yang baik].

**Larutan standar internal.** Pada 40 mg metil-paraben tambah 220 ml metanol aduk sampai larut. Larutkan 2 g kalium fosfat monobasa dalam 300 ml air. Campurkan kedalam larutan yang bersi metil paraben, tambah 300 ml air dan aduk. Tambah 19 ml pereaksi (1), 7 ml asam fofat 3 M dan 30 ml pereaksi (2). Atur pH 9,8 dengan amonia. Alirkan nitrogen kedalam larutan selama 30 menit, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml dan aduk.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar asam folat dalam larutan standar internal sampai konsentrasi 0,2 mg/ml. Encerkan 2 ml dengan larutan standar internal sampai volume 25 ml dan aduk.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan setara dengan 0,4 mg asam folat dalam 25 ml larutan standar internal, aduk selama 10 menit, dan sentrifus. Saring supernatan dan gunakan hasil saringan untuk penetapan.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 30 cm x 4,6 mm atau yang sesuai

**Laju alir.** 1 ml/menit

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

Injek larutan standar, waktu tambat relatif sekitar 0,8 untuk asam folat dan 1,0 untuk metilparaben; simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 15 µl larutan standar, larutan standar internal dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus:

$$25 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi asam folat larutan standar, (mg/ml)

A<sub>S</sub> dan A<sub>Std</sub> = perbandingan area asam folat terhadap metilparaben pada larutan uji dan larutan standar

2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pereaksi.** Larutkan 7,5 g dinatrium edetat dalam 500 ml air (yang mengandung 10 ml amonium hidroksida).

**Pelarut pengencer.** Amonium hidroksida (60 µg/ml).

**Fase gerak.** Encerkan 0,4 ml tritilamin, 15 ml asam asetat glisial dan 350 ml metanol dengan natrium

1-heksansulfonat 0,008 M sampai batas volume 2000 ml dan saring. Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan standar asam folat ke dalam pelarut pengencer sampai konsentrasi 60 µg/ml. Larutan harus segar.

**Larutan standar.** Pada 5 ml larutan stok standar, tambah 10 ml metanol dan 35 ml pereaksi. Aduk selama 15 menit di dalam penangas air pada suhu 60°C, dinginkan. Saring (buang beberapa ml hasil saringan pertama) dan gunakan hasil saringan.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 0,3 mg asam folat, tambah 10 ml metanol dan 35 ml pereaksi. Aduk selama 15 menit di dalam penangas air pada suhu 60°C, dinginkan. Saring (buang beberapa ml hasil saringan pertama), gunakan hasil saringan.

**Kolom.** Oktilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm, suhu 59°C.

**Kecepatan alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 270 nm.

Injek larutan standar, Simpangan baku tidak lebih dari 2,0%.

Injek 5 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus:

$$45 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi asam folat dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

### Kalsium pantotenat

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campur air dan asam fosfat (1000:1). Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar internal.** Larutkan 80 mg asam p-hidroksibenzoat dalam 3 ml alkohol. Tambah 50 ml air dan 7,1 g natrium fosfat dibasa. Encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml dan aduk. Atur pH 6,7, dengan asam fosfat.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar kalsium pantotenat dengan larutan standar internal sampai konsentrasi 0,6 mg/ml.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 15 mg kalsium pantotenat, tambah 25 ml larutan standar internal, aduk selama 10 menit. Sentrifus dan saring. Gunakan hasil saringan.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 3,9 mm.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 210 nm.

Injek larutan standar, waktu tambat relatif adalah 0,5 untuk kalsium pantotenat dan 1,0 untuk asam p-hidroksibenzoat; simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek larutan standar. Simpangan baku tidak lebih dari 2,0%.

Injek 10 µl larutan standar, larutan standar internal dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus:

$$25 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi kalsium pantotenat dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>s</sub> dan A<sub>Std</sub> = Perbandingan areakalsium pantotenat terhadap parahidroksibenzoat pada larutan uji dan larutan standar

2. Lakukan dengan metode mikrobiologi, menggunakan:

**Larutan stok standar.** Larutkan 50 mg kalsium pantotenat (sebelumnya dikeringkan dan disimpan dalam tempat gelap diatas fosfor pentoksida) dalam 500 ml air. Tambah 10 ml asam asetat 0,2 M, 100 ml larutan natrium asetat (1 dalam 60), dan encerkan dengan air sampai konsentrasi 50 µg/ml. Simpan botol dalam toluen di lemari pendingin.

**Larutan standar.** Encerkan larutan stok standar dengan air sampai konsentrasi 0,01—0,04 µg/ml kalsium pantotenat.

**Larutan uji.** Larutkan sediaan setara 50 mg kalsium pantotenat dalam 500 ml air. Tambah 10 ml asam asetat 0,2 M, 100 ml larutan natrium asetat (1 dalam 60), encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml dan saring. Encerkan larutan sampai konsentrasi setara dengan larutan standar.

**Larutan asam-kasein hidrolisat.** Campurkan 100 g vitamin bebas kasein dengan 500 ml asam hidroklorida 6 M dan refluks selama 8—12 jam. Suling dengan pengurangan tekanan (untuk menghilangkan asam hidroklorida) sampai terbentuk pasta. Larutkan pasta dalam air, atur pH 3,5 ± 0,1 dengan natrium hidroksida 1 M dan tambah air sampai batas volume 1000 ml. Tambah 20 g arang aktif, aduk selama 1 jam dan saring ke dalam botol. Ulangi proses dengan arang aktif. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak lebih dari 10°C.

**Larutan sistin-triptofan.** Suspensikan 4,0 g L-sistin dalam 1,0 g L-triptofan (atau 2,0 g D,L-triptofan) dalam sekitar 700 ml air, panaskan pada suhu 70°—80°C, tambah setetes demi setetes larutan asam hidroklorida (1 dari 2), dan aduk. Dinginkan dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak lebih dari 10°C.

**Larutan urasil-guanin-adenin.** Larutkan 200 mg adenin sulfat, guanin hidroklorida, dan urasil dalam 10 ml asam hidroklorida 4M sambil dipanaskan, dinginkan, dan tambah air sampai batas volume 200 ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan polisorb 80.** Larutkan dan encerkan 25 g polisorb 80 dalam alkohol sampai batas volume 250 ml.

**Larutan riboflavin-tiamin hidroklorida-biotin.** Larutan riboflavin dan tiamin hidroklorida dan biotin dalam asam asetat 0,02M yang mengandung 20 µg/ml riboflavin dan 10 µg/ml tiamin hidroklorida dan 0,04 µg/ml biotin. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak lebih 10°C.

**Larutan asam p-aminobenzoat-niasin-piridoksin hidroklorida.** Campuran air dan alkohol netral (3:1) yang mengandung 10 µg/ml asam p-aminobenzoat, 50 µg/ml niasin dan 40 µg/ml piridoksin hidroklorida. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan garam 1.** Larutkan dan encerkan 25 g kalium fosfat monobasa dan 25 g kalium fosfat dibasa dalam air sampai batas volume 500 ml. Tambah 5 tetes asam hidroklorida dan aduk. Simpan botol dalam toluen.

**Larutan garam 2.** Larutkan dan encerkan 10 g magnesium sulfat, 0,5 g natrium klorida, 0,5 g besi sulfat dan 0,5 g mangan sulfat dalam air sampai batas volume 500 ml. Tambah 5 tetes asam hidroklorida dan aduk. Simpan botol dalam toluen.

**Stok kultur *Lactobacillus plantarum*.** Larutkan 2 g sari ragi dalam 100 ml air, tambah 500 mg dekstrosa anhidrat, 500 mg natrium asetat anhidrat dan 1,5 g agar. Panaskan campuran di atas penangas air dengan pengadukan sampai agar larut. Pindahkan 10 ml larutan panas pada tabung uji, sumbat, sterilkan dalam otoklaf 121°C dan biarkan tabung sampai dingin dalam posisi tegak lurus. Siapkan stok kultur pada tiga atau lebih tabung, gunakan kultur murni *Lactobacillus plantarum*, inkubasi selama 16–24 jam pada suhu 30°–37°C. Simpan dalam lemari pendingin. Siapkan stok kultur segar setiap minggunya dan jangan gunakan untuk inokulum jika kultur lebih dari 1 minggu.

**Medium kultur.** Setiap tabung uji mengandung 5 ml larutan basal stok medium, tambah 5 ml air yang mengandung 0,5 mg kalsium pantotenat. Sumbat dengan katun, sterilkan dalam otoklaf 121°C dan dinginkan.

**Inokulum.** [Suspensi beku *Lactobacillus plantarum* dapat digunakan sebagai stok kultur untuk menghasilkan inokulum yang sebanding dengan kultur segar]. Pindahkan secukupnya dari stok kultur *Lactobacillus plantarum* ke dalam tabung steril yang mengandung 10 ml medium kultur. Inkubasi pada suhu 30°–37°C selama 16–24 jam.

**Larutan stok basal medium.** Campur 25 ml larutan asam-kasein hidrolisat, 25 ml larutan sistin triptofan, 0,25 ml polisorb 80, 10 g dekstrosa

anhidrat, 5 g natrium asetat anhidrat, 5 ml larutan urasil-adenin-guanin, 5 ml riboflavin-tiamin hidroklorida-biotin, 5 ml larutan p-aminobenzoat-niasin-piridoksin hidroklorida, 5 ml larutan garam-1, 5 ml larutan garam-2, atur pH 6,8 dengan natrium hidroksida 1M dan encerkan dengan air sampai batas volume 250ml.

**Prosedur.** Siapkan enam tabung, tambah ke setiap tabung yang berbeda 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0 dan 5,0 ml larutan standar. Pada setiap tabung dan empat tabung kosong lain, tambah 5 ml larutan basal stok medium dan air sampai volume 10 ml.

Pada empat tabung yang kosong, tambahkan larutan uji 2 - 3 kali larutan standar termasuk 2,0; 3,0; dan 4,0 ml. Pada setiap tabung, tambah 5 ml larutan basal stok medium dan air sampai volume 10 ml.

Sumbat semua tabung, sterilkan pada otoklaf 121°C selama 5 menit. Dinginkan, tambah 1 tetes inokulum pada setiap tabung, kecuali dua dari empat tabung tidak mengandung larutan standar (blanko) dan aduk. Inkubasi pada suhu 30°–37°C selama 16–24 jam inkubasi. Dalam 2 jam pertama tidak terjadi kekeruhan dalam tabung yang mengandung standar dengan konsentrasi paling tinggi.

Ukur %T dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540–660 nm.

**Perhitungan.** Lakukan perhitungan dengan bantuan kurva konsentrasi-respon (%T) atau dengan bantuan program yang tersedia pada peralatan.

3. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Dapar fosfat.** Larutkan dan encerkan 10 g kalium fosfat monobasa dalam air sampai batas volume 2000 ml. Atur pH 3,5 dengan asam fosfat.

**Fase gerak.** Campur dapar fosfat dan metanol (90:10). Jika perlu, lakukan penyesuaian jika diperlukan (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutan standar kalsium pantotenat dalam air sampai konsentrasi 0,25 mg/ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan standar.** Encerkan stok standar dengan air sampai konsentrasi 40 µg/ml.

**Larutan uji.** Larutkan sediaan setara 10 mg kalsium pantotenat dengan 50 ml metanol, dan encerkan dengan air sampai batas volume 250 ml dan saring.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 3,9 mm, atau yang sesuai, suhu 50°C.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 205 nm.

Injek larutan standar, simpangan baku relative tidak lebih dari 3,0%.

Injek 25 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus:

$$250 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi kalsium pantotenat dalam larutan standar (mg/ml)

$A_S$  = area puncak larutan uji

$A_{Std}$  = area puncak larutan standar

### Niasin atau niasinamid, piridoksin hidroklorida, riboflavin dan tiamin hidroklorida

#### Vitamin B<sub>3</sub> (niasin)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan pengencer.** Campur air, asetonitril, dan asam asetat glasial (94:5:1).

**Fase gerak.** Campur air, metanol, dan asam asetat glasial (73:27:1) yang mengandung 140 mg natrium 1-heksansulfonat per 100 ml. Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar.** Pada 80 mg standar niasinamid, 20 mg standar piridoksin hidroklorida, 20 mg standar riboflavin, dan 20 mg standar tiamin hidroklorida, tambah 180 ml larutan pengencer. Rendam labu dalam penangas air pada suhu 65°—70°C selama 10 menit sambil diaduk sampai larut. Dinginkan segera dalam air dingin selama 10 menit pada suhu ruang, encerkan dengan larutan pengencer sampai batas volume 200 ml dan aduk.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara 10 mg niasinamid dan 2,5 mg setiap piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin, tambah 25 ml larutan pengencer, dan aduk selama 30 detik sampai larut. Rendam tabung sentrifus dalam penangas air pada suhu 65°—70°C, panaskan selama 5 menit, dan aduk selama 30 detik. Masukkan kembali tabung ke dalam penangas air, panaskan kembali selama 5 menit, dan aduk selama 30 detik. Saring larutan, dinginkan pada suhu ruang, dan gunakan saringan. [Catatan - gunakan saringan dalam jangka waktu 3 jam].

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 3,9 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

Injek larutan standar, waktu tambat relatif dari niasinamid, piridoksin, riboflavin, dan tiamin adalah sekitar 0,3; 0,5; 0,8; dan 1,0; simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 25 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$25 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi niasin dalam larutan standar (mg/ml)

$A_S$  = area puncak larutan uji

$A_{Std}$  = area puncak larutan standar

2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan pengeksrak.** Pada 1 ml asam asetat glasial dan 2,5 g dinatrium edetat larutkan dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml dan aduk. Campur larutan dengan metanol (75:25).

**Fase gerak.** Natrium asetat 0,1M (larutkan 13,6 g natrium asetat ke dalam 1000 ml air. Atur pH 5,4 dengan asam asetat dan aduk. Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi). Pada fase gerak, tambah metanol sampai konsentrasi 1%.

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan standar niasin dalam larutan pengeksrak sampai konsentrasi 1 mg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan 5 ml larutan stok standar dengan larutan pengeksrak sampai volume 25 ml.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 2 mg riboflavin atau setara dengan 2 mg piridoksin atau setara dengan 20 mg niasin atau niasinamid, tambah 100 ml larutan pengeksrak dan aduk selama 20 menit dalam penangas air pada suhu 70°—75°C, dan panaskan selama 20 menit. Aduk selama 30 detik, dinginkan pada suhu ruang dan saring. Gunakan hasil saringan.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Injek standar, simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%. Jika diperlukan, bilas kolom dengan metanol.

Injek 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$100 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi niasin dalam larutan standar (mg/ml)

$A_S$  = area puncak larutan uji

$A_{Std}$  = area puncak larutan standar

3. Lakukan dengan metode kromatografi cair (untuk niasin atau niasinamida, piridoksin hidroklorida, riboflavin dan tiamin).

**Pereaksi.** Larutan 25 g dinatrium edetat dalam 1000 ml air.

**Fase gerak.** Pada 0,4 ml trietilamin, 15,0 ml asam asetat glasial dan 350 ml metanol, tambah natrium 1-heksansulfonat 0,008M sampai batas volume 2000 ml dan aduk. Saring dan gunakan hasil saringan. Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan standar niasin atau niasinamid, piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin hidroklorida dengan pereaksi (jika perlu, panaskan), sampai konsentrasi 1,5 mg/ml (niasin atau niasinamid), 0,24 mg/ml (piridoksin hidroklorida), 0,08 mg/ml (riboflavin) dan 0,24 mg/ml (tiamin hidroklorida).

**Larutan standar.** Pada 5 ml larutan stok standar, tambah 10 ml campuran metanol dan asam asetat glasial (9:1) dan 30 ml campuran metanol dan etilen glikol (1: 1). Sumbat, aduk selama 15 menit dalam penangas air pada suhu 60°C, dan dinginkan. Saring dan buang beberapa ml hasil saringan pertama.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara 7,5 mg niasin atau niasinamid, 1,2 mg piridoksin hidroklorida, 0,4 mg riboflavin, dan 1,2 mg tiamin hidroklorida. Tambah 10 ml campuran metanol dan asam asetat glasial (9:1), 30 ml campuran metanol dan etilen glikol (1:1). Sumbat dan aduk selama 15 menit dalam penangas air pada suhu 60°C, dan dinginkan. Saring dan buang beberapa ml hasil saringan pertama.

**Kolom.** Oktisilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai. Suhu 50°C.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 270 nm.

Injek standar; simpangan baku relatif tidak lebih dari 2%.

Injek 5 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus:

$$40 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi niasin dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>S</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

### Vitamin B<sub>3</sub> (niasinamid)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lihat metode 1 untuk niasin.
2. Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan: Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar niasin, metode 2, menggunakan: Larutan pengekstrak, fase gerak, larutan stok standar, larutan standar, larutan uji, dan sistem kromatografik.

Injek 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$100 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi niasinamid dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>S</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

3. Lihat metode 3 untuk niasin.

### Vitamin B<sub>6</sub> (piridoksin hidroklorida)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lihat metode 1 untuk niasin.
2. Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan: Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar niasin, metode 2, menggunakan: larutan pengekstrak, fase gerak.

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan standar piridoksin hidroklorida dalam larutan pengekstrak sampai konsentrasi 0,1 mg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan 5 ml larutan stok standar dengan larutan pengekstrak sampai volume 25 ml dan aduk.

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasin, metode 2.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Injek standar, simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$100 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi piridoksin hidroklorida dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>S</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

3. Lihat metode 3 untuk niasin.

### Vitamin B<sub>2</sub> (riboflavin)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lihat metode 1 untuk niasin.
2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan pengekstrak.** Lihat metode 2 untuk niasin.

**Fase gerak.** Larutkan 6,8 g natrium asetat dalam 1000 ml air dan aduk. Campur larutan dengan metanol (65:35). Tambah 2 ml trietilamin, atur pH

5,2 dengan asam asetat glasial. Jika perlu, lakukan penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Pada 20 mg standar riboflavin, tambah 180 ml larutan pengekstrak dan panaskan selama 5 menit dalam penangas air pada suhu 65°—75°C dan aduk. (Jika diperlukan ulangi proses tersebut sampai larut). Dinginkan dalam air dingin pada suhu ruang, encerkan dengan larutan pengekstrak sampai batas volume 2000 ml dan aduk.

**Larutan standar.** Encerkan 5 ml larutan stok standar dengan larutan pengekstrak sampai volume 25 ml dan aduk.

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasin, metode 2.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Injek larutan standar, simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$100 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi riboflavin dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>S</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

3. Lihat metode 3 untuk niasin.

### Vitamin B<sub>1</sub> (tiamin)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut :

1. Lihat metode 1 untuk niasin.
2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Larutkan 1,88 g natrium 1-heksan-sulfonat dalam 1000 ml asam fosfat (0,1%). Campur larutan dengan asetonitril (92:18). Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan standar tiamin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,2 M sampai konsentrasi 0,1 mg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan 5 ml larutan stok standar dengan asam hidroklorida 0,2 M sampai volume 25 ml.

**Larutan uji.** Larutkan sediaan setara dengan 2 mg tiamin dalam 100 ml asam hidroklorida 0,2 M, aduk selama 15 menit dan didihkan selama 30 menit. Dinginkan pada suhu ruang, dan saring. Gunakan saringan.

**Kolom.** Okatadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Injek standar, simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus:

$$100 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi tiamin dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>S</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

### Kalsium, kromium, tembaga, fluorin, iodium, besi, magnesium, mangan, molibdenum, fosfor, kalium, selenium dan seng

Lakukan dengan metode seperti yang tertera pada vitamin larut lemak, air dan mineral tablet.

### Penyimpanan

Disimpan dalam wadah, tertutup rapat dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Jenis sediaan, 3) Indikasi, 4) Waktu kadaluwarsa, 5) Kondisi penyimpanan.

## Vitamin Larut Air, Lemak dan Mineral Serbuk Oral

### Definisi

Vitamin larut air, lemak dan mineral dalam sediaan serbuk oral mengandung dua atau lebih vitamin larut lemak yaitu : vitamin A, vitamin D sebagai ergokalsiferol (vitamin D<sub>2</sub>) atau kolekalsiferol (vitamin D<sub>3</sub>), vitamin E, fitonadion (vitamin K<sub>1</sub>), β-karotin; dan satu atau lebih vitamin yang dapat larut dalam air yaitu: asam askorbat atau setara dengan kalsium askorbat atau natrium askorbat, biotin, sianokobalamin, asam folat, niasin atau niasinamid, asam pantotenik (sebagai kalsium pantotenat atau rasemik kalsium pantotenat), piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin hidroklorida atau tiamin mononitrat; dan satu atau lebih mineral dilengkapi dengan satu atau lebih unsur-unsur berikut dalam ionisasi : kalsium, kromium, tembaga, fluorin, iodium, besi, magnesium, mangan, molibdenum, fosfor, kalium, selenium, dan seng serta dapat mengandung zat lain yang tertera dalam etiket dengan jumlah yang akurat.

Serbuk oral memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan serbuk oral dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang dari 80,0% dari jumlah yang tertera pada etiket untuk vitamin A (C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O) sebagai retinol atau ester retinol dalam bentuk retinil asetat

(C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>) atau retinil palmitat (C<sub>36</sub>H<sub>60</sub>O<sub>2</sub>), vitamin D sebagai kolekalsiferol (C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O) atau ergokalsiferol (C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O), vitamin E sebagai α-tokoferol (C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>) atau α-tokoferil asetat (C<sub>31</sub>H<sub>52</sub>O<sub>3</sub>) atau α-tokoferil suksinat (C<sub>33</sub>H<sub>54</sub>O<sub>5</sub>), fitonadion (C<sub>31</sub>H<sub>46</sub>O<sub>2</sub>), dan β-karotin (C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>) tidak kurang 80,0% dari jumlah yang tertera dalam etiket untuk asam askorbat (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) atau garamnya sebagai kalsium askorbat (C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>CaO<sub>12</sub>·2H<sub>2</sub>O) atau natrium askorbat (C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>NaO<sub>6</sub>), biotin (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S), sianokobalamin (C<sub>63</sub>H<sub>88</sub>CoN<sub>14</sub>O<sub>14</sub>P), asam folat (C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub>), niasin (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>2</sub>), atau niasinamid (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O), kalsium pantotenat (C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>CaN<sub>2</sub>O<sub>10</sub>), piridoksin hidroklorida (C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>·HCl), riboflavin (C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>), dan tiamin (C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>CIN<sub>4</sub>OS) sebagai tiamin hidroklorida atau tiamin mononitrat; kalsium (Ca), tembaga (Cu), besi (Fe), magnesium (Mg), mangan (Mn), fosfor (P), kalium (K), dan seng (Zn); kromium (Cr), fluorin (F), iodium (I), molibdenum (Mo), dan selenium (Se).

### Identifikasi

Lakukan dengan cara seperti yang tertera pada penetapan kadar.

### Penetapan kadar

#### Vitamin A (retinol)

Lakukan dengan salah satu metode dibawah beriku:

1. Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan:

**Asam sulfat-metanol 3 M.** Tambah dengan hati-hati 9 ml asam sulfat ke dalam 80 ml metanol dalam labu -100 ml. Dinginkan, dan encerkan dengan metanol sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Natrium askorbat-pirogallol.** Pada 10 g natrium askorbat dan 5 g pirogallol, tambah air sampai larut. Tambah 1,7 ml asam sulfat, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Lesitin.** Larutkan dan encerkan 0,5 g lesitin dengan 2,2,4-trimetilpentan sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Fase gerak.** Campuran n-heksan dan etil asetat (99,7:0,3).

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar vitamin A (retinil asetat) dalam 2,2,4-trimetilpentan sampai konsentrasi 15 µg/ml.

**Larutan kesesuaian sistem.** Larutkan sediaan retinil palmitat dalam 2,2,4-trimetilpentan sampai konsentrasi 15 µg/ml. Campur larutan dengan larutan standar sampai masing-masing konsentrasi 7,5 µg retinil asetat/ml dan 7,5 µg retinil palmitat/ml.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 30 µg kolekalkiferol atau ergokalkiferol atau setara dengan 90 mg vitamin E (sebagai α-tokoferol, α-tokoferil asetat, atau α-tokoferil hemisuksinat) atau setara dengan 2,5 mg retinil asetat atau retinil palmitat. Tambah 0,5 g natrium bikarbonat, 1,5 ml lesitin, dan 12,5 ml 2,2,4-trimetilpentan, aduk. Tambah 6 ml larutan natrium askorbat-pirogallol, aduk, dan biarkan larutan sampai gas keluar. Lanjutkan

pengadukan sampai evolusi gas telah berhenti, aduk kembali selama 12 menit. Tambahkan 6 ml dimetilsulfoksida, aduk sampai terbentuk suspensi, dan aduk selama 12 menit. Tambahkan 6 ml larutan asam sulfat-metanol 3 M, campur sampai terbentuk suspensi, dan aduk selama 12 menit. Tambahkan 12,5 ml 2,2,4-trimetilpentan, aduk sampai terbentuk suspensi, dan kocok selama 10 menit. Sentrifus selama 10 menit untuk memecahkan emulsi dan supernatan menjadi jernih. [supernatant untuk penetapan kadar vitamin A, D dan E]. Jika diperlukan, larutkan supernatan dengan 2,2,4-trimetilpentan sampai diperoleh konsentrasi setara dengan larutan standar.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 325 nm.

**Kolom.** Polimer vinil, 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1,5 m per menit.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi, antara retinil asetat dan retinil palmitat tidak kurang dari 8,0; dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 40 µL larutan standar dan larutan uji dan ukur area puncak untuk retinil asetat yang diperoleh dari larutan standar dan area puncak untuk retinil asetat atau retinil palmitat yang diperoleh dari larutan uji. Hitung kadar (mg) dari vitamin A, sebagai retinil dengan rumus :

$$26,5 \text{ ECD} \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

E = faktor konversi untuk retinil asetat dari vitamin A

0,872 = faktor

C = konsentrasi vitamin A standar (mg/ml)

D = faktor pelarut (ml), digunakan untuk persiapan larutan uji dari supernatan

A<sub>s</sub> = area puncak all-trans retinil ester diperoleh dari larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak all-trans retinil ester diperoleh dari standar

2. Lakukan dengan kromatografi cair menggunakan:

**Larutan pengestrak.** Campur n-heksan dan metilen klorida (3:1).

**Kalium hidroksida.** Larutkan 80 g kalium hidroksida dalam 100 ml air, aduk, dan dinginkan.

**Larutan pengencer.** Larutkan 1 g pirogallol dalam alkohol sampai batas volume volume 100,0 ml dan aduk.

**Fase gerak.** Campuran n-heksan dan isopropil-alkohol (92 : 8). Jika diperlukan lakukan penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan sediaan vitamin A dalam larutan pengencer sampai konsentrasi 30 µg/ml. Larutan disimpan dalam lemari pendingin selama 1 minggu.



**Larutan standar.** Encerkan larutan stok standar dengan larutan pengencer sampai konsentrasi 1 µg/ml vitamin A. Pada 10 ml larutan, tambah 5 ml air, 5 ml larutan pengencer dan 3 ml larutan kalium hidroksida. Aduk selama 15 menit di atas penangas air dengan suhu  $6^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$ , dan dinginkan dalam suhu ruang. Tambah 7 ml air dan 25 ml larutan pengeksrak. Aduk selama 60 detik. Bilas labu dengan 60 ml air, biarkan selama 10 menit sampai lapisan terpisah. Larutan standar mengandung 0,34 µg/ml retinol.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 1,5 mg retinil asetat, tambah 5 ml air, 15 ml larutan pengencer dan 3 ml larutan kalium hidroksida. Aduk selama 15 menit di atas penangas air dengan suhu  $6^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$  dan dinginkan pada suhu ruang. Tambah 7 ml air dan 25 ml larutan pengeksrak. Aduk selama 60 detik atau lebih. Bilas labu dengan 60 ml air, dan biarkan selama 10 menit sampai lapisan terpisah. [Jangan dikocok, saat emulsi terbentuk]. Encerkan sebagian lapisan organik dengan larutan pengeksrak sampai konsentrasi 0,34 µg/ml (retinol).

**Kolom.** Silika gel, 5 µm, ukuran 8,0 cm x 6,2 mm, atau yang sesuai dengan suhu 40°C.

**Laju alir.** 4 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 335 nm.

Injek 50 µl larutan standar dan larutan uji ke dalam kromatograf. Hitung kadar (mg), dari vitamin A, sebagai retinol dengan rumus :

$$0.872 CD \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

0,872 = faktor konversi untuk retinil asetat, dari standar vitamin A

C = konsentrasi vitamin A standar (mg/ml)

D = faktor pelarut (ml) digunakan untuk larutan uji

$A_s$  = jumlah area puncak all-trans retinol dan 13-cis retinol yang dari larutan uji

$A_{Std}$  = area puncak all-trans retinil asetat yang diperoleh dari larutan standar

### Vitamin D (kolekalsiferol atau ergokalsiferol)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campuran n-heksan dan isopropil-alkohol (99 : 1). Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar.** Larutkan standar kolekalsiferol atau ergokalsiferol dalam n-heksan sampai konsentrasi 2 µg/ml.

**Larutan kesesuaian sistem.** Panaskan larutan standar dengan suhu 60° selama 1 jam untuk

mendapatkan isomer vitamin D (kolekalsiferol atau ergokalsiferol) sebagai prekursor.

**Larutan uji.** Uapkan 20 ml larutan, yang diperoleh pada penetapan kadar vitamin A (metode 1) sampai konsentrasi 2 µg/ml (kolekalsiferol atau ergokalsiferol).

**Kolom.** Aminopropilsilil 10 µm, ukuran 15 cm x 4,6 mm.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 265 nm.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi antara vitamin D yang terbentuk dan prekursor tidak kurang dari 10; dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 100 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dari kolekalsiferol atau ergokalsiferol dengan rumus:

$$1,09 CD \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

1,09 = faktor-koreksi untuk menghitung jumlah previtamin D yang ada dalam sediaan

C = konsentrasi kolekalsiferol dan ergokalsiferol pada larutan standar (µg/ml)

D = faktor pelarut (ml) untuk larutan uji

$A_s$  = area puncak larutan uji

$A_{Std}$  = area puncak larutan standar

2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan :

**Asam sulfat-metanol 3 M.** Tambah dengan hati-hati 9 ml asam sulfat dalam 80 ml metanol. Dinginkan, dan encerkan dengan metanol sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Natrium askorbat-pirogallol.** Pada 10 g natrium askorbat dan 5 g pirogallol, tambah air sampai larut. Tambah 1,7 ml asam sulfat, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Lesitin.** Larutkan dan encerkan 0,5 g lesitin dengan 2,2,4-trimetilpentan sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Fase gerak.** Campur n-heksan dan butanol (98,75 : 1,25). Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem (kromatografi)).

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar kolekalsiferol atau standar ergokalsiferol dalam 2,2,4-trimetilpentan sampai konsentrasi 1 µg/ml .

**Larutan kesesuaian sistem.** Panaskan larutan standar pada suhu 60° selama 1 jam untuk mendapatkan isomer vitamin D (kolekalsiferol atau ergokalsiferol) sebagai prekursor.

**Kolom.** Polimer vinil gel, 5-µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi antara vitamin D

yang terbentuk dan prekursor tidak kurang dari 10; dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 100 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dari kolekalsiferol atau ergokalsiferol dengan rumus :

$$26,5 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi kolekalsiferol atau ergokalsiferol larutan standar (µg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

3. Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan:

**Asam asetat encer.** Encerkan 10 ml asam asetat glasial dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan fenolftalein.** Fenolftalein (1 g per 100 ml alkohol).

**Larutan kalium hidroksida-alkohol.** Larutkan 14 g kalium hidroksida dalam campuran 31 ml alkohol anhidrat dan 5 ml air. Larutan harus segar.

**Larutan pengeksrak.** Campuran metilen klorida dan isopropil alkohol (99,8:0,2).

**Fase gerak.** Cambur asetonitril dan metanol (91:9). Jika diperlukan, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan kolekalsiferol atau ergokalsiferol dalam alkohol anhidrat sampai konsentrasi 0,2 mg/ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan standar.** [Kondisikan kolom ekstraksi fasa-padat dengan cara bilas kolom dengan 4 ml campuran metilen klorida dan isopropil alkohol (80:20), kemudian dengan 5 ml larutan pengeksrak. Jangan biarkan kolom kering]. Encerkan larutan stok standar dengan alkohol anhidrat sampai konsentrasi 5 µg/ml. Pada 2 ml larutan, tambah 15 ml air dan 15 ml larutan kalium hidroksida-alkohol, sumbat, aduk selama 30 menit dalam penangas air 60°C. Dinginkan pada suhu ruang dan pindahkan ke dalam labu pisah-250 ml. Tambah 15 ml air, aduk dan pindahkan larutan ke dalam labu pisah kedua, tambah 60 ml n-heksan dan aduk selama 15 menit. Buang lapisan air. Pada fase heksan, tambah 1 tetes fenolftalein, 15 ml air, dan asam asetat encer perlahan-lahan sampai netral. Biarkan selama 10 menit sampai lapisan terpisah dan buang lapisan air. Saring fase heksan dengan natrium sulfat anhidrat ke dalam botol 100 ml. Bilas penyaring dengan n-heksan dan campur hasil bilasan dalam botol yang sama. Uapkan fase heksan dengan rotavapor pada suhu 50°C sampai kering. Larutkan residu dengan 2 ml larutan pengeksrak dan alirkan ke dalam kolom silika ekstraksi fasa-padat (*solid phase extraction silica*). Elusi kolom dengan 10 ml larutan pengeksrak dan buang 1 ml eluat pertama, kemudian tampung eluat berikutnya. Hangatkan di atas penangas air pada suhu 42°C dan uapkan

dengan aliran nitrogen. Larutkan residu dengan 2 ml asetonitril.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 10 µg kolekalsiferol atau ergokalsiferol, lakukan dengan cara yang sama seperti larutan standar, dimulai dengan "...tambah 15 ml air dan 15 ml larutan kalium hidroksida-alkohol .....".

**Kolom.** Oktadesilsilil 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 27°C.

**Laju alir.** 0,7 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 265 nm.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi antara vitamin D yang terbentuk dan prekursor tidak kurang dari 10. dan simpangan baku relatif untuk tidak lebih dari 4%.

Injek 15 µl larutan standar dan larutan uji. Hitung kadar (µg) dari kolekalsiferol atau ergokalsiferol dengan rumus :

$$1,09 (2C) \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

1,09 = faktor-koreksi untuk menghitung jumlah previtamin D

C = konsentrasi larutan standar (µg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

#### Vitamin E (α-tokoferol, α-tokoferil asetat, atau α-tokoferil suksinat)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Encerkan 10 ml asam fosfat dengan air sampai batas volume 1000 ml (larutan A). Campur metanol dan larutan A (95:5). Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar.** Larutkan sediaan α-tokoferol, α-tokoferil asetat, atau α-tokoferil suksinat dalam metanol sampai konsentrasi 2 mg/ml.

**Larutan kesesuaian sistem.** Larutkan standar ergokalsiferol dalam metanol sampai konsentrasi 0,65 mg/ml. Pindahkan 1 ml larutan ke dalam labu yang mengandung 100 mg α-tokoferil asetat. Larutkan dengan 30 ml metanol dan aduk. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan uji.** Uapkan 20 ml larutan (yang diperoleh pada penetapan vitamin A). Metode 1 pada suhu ruang dengan vakum sampai kering. Larutkan dan encerkan residu dengan metanol sampai konsentrasi 2 mg/ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5 µm, 10 cm x 8 mm.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Kesesuaian sistem.** Waktu tambat relatif 0,5 untuk ergokalsiferol dan 1,0 untuk  $\alpha$ -tokoferil asetat; resolusi antara ergokalsiferol dan  $\alpha$ -tokoferil asetat tidak kurang dari 12; dan faktor tailing antara 0,8 dan 1,2. Simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injeksi 100  $\mu$ l larutan standar dan larutan uji. Hitung kadar ( $\mu$ g) dengan rumus:

$$CD \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

- C = konsentrasi standar (mg/ml)  
 D = faktor pelarut (ml) untuk larutan uji  
 $A_S$  = area puncak larutan uji  
 $A_{Std}$  = area puncak larutan standar

2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campur 240 ml metanol, 10 ml air, 0,5 ml asam fosfat 50%, encerkan dengan asetonitril sampai batas volume 1000 ml, aduk dan saring. Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan kesesuaian sistem.** Larutkan dan encerkan sediaan  $\alpha$ -tokoferol,  $\alpha$ -tokoferil asetat, dan  $\alpha$ -tokoferil suksinat dalam metanol sampai konsentrasi 2 mg/ml.

**Larutan standar.** Larutan dan encerkan standar  $\alpha$ -tokoferol,  $\alpha$ -tokoferil asetat, atau  $\alpha$ -tokoferil suksinat dalam metanol sampai konsentrasi 2 mg/ml.

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam penetapan vitamin A, Metoda 2. Pindahkan supernatant 2,2,4-trimetilpentan ke dalam labu sampai konsentrasi setara dengan larutan standar. Uapkan sampai kering, tambah metanol, dan uapkan sisa 2,2,4-trimetilpentan. Encerkan dengan metanol dan aduk.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5  $\mu$ m, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

**Kesesuaian sistem.** Waktu tambat relatif 0,6 untuk  $\alpha$ -tokoferil suksinat, 0,8 untuk  $\alpha$ -tokoferol, dan 1,0 untuk  $\alpha$ -tokoferil asetat, berturut-turut; resolusi antara  $\alpha$ -tokoferil suksinat dan  $\alpha$ -tokoferol tidak kurang dari 4,0; dan resolusi antara  $\alpha$ -tokoferol serta  $\alpha$ -tokoferil asetat tidak kurang dari 3,0. Simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injeksi 25  $\mu$ l larutan standar dan larutan uji. Hitung kadar ( $\mu$ g) dengan rumus :

$$26,5 CD \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

- C = konsentrasi standar (mg/ml)  
 D = faktor pelarut sebagai pengganti pelarut 2,2,4-trimetilpentan menjadi metanol

$A_S$  = area puncak larutan uji

$A_{Std}$  = area puncak larutan standar

[Ekstraksi awal pada 26,5 ml 2,2,4-trimetilpentan telah dibukukan dalam rumus] Hitung  $\alpha$ -tokoferol setara dengan  $\alpha$ -tokoferil asetat atau  $\alpha$ -tokoferil suksinat dengan cara mengalikan jumlah (mg), oleh faktor 0,91 atau 0,81.

3. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pelarut.** Campuran asetonitril dan etil asetat (1:1).

**Fase gerak.** Campuran metanol, asetonitril, dan n-heksan (46,5 : 46,5 : 7,0). Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar.** Larutan dan encerkan standar  $\alpha$ -tokoferol,  $\alpha$ -tokoferil asetat, atau  $\alpha$ -tokoferil suksinat dalam metanol sampai konsentrasi 0,3 mg/ml.

**Larutan uji.** Sediaan setara dengan 8 mg  $\alpha$ -tokoferol, ke dalam labu-125 ml. Tambah 25 ml air, 25 ml alkohol dehidrat dan 3,5 g kalium hidroksida. Aduk selama 1 jam dalam penangas air 55°C, dinginkan, dan pindahkan dengan bantuan 50 ml n-heksan ke dalam labu pisah-125 ml dan kocok selama 60 detik sampai lapisan terpisah. Pindahkan lapisan air ke dalam labu pisah-250 ml kedua, dan ulangi ekstraksi dengan 50 ml n-heksan. Buang lapisan air dan gabungkan ekstrak heksan. Bilas ekstraksi dengan 25 ml air sampai lapisan terpisah, dan buang lapisan air. Tambah 3 tetes asam asetat glasial dan ulangi prosedur pembilasan sebanyak 2 kali. Saring hasil bilasan lapisan heksan dengan natrium sulfat anhidrat ke dalam botol-250 ml. Bilas corong dan natrium sulfat dengan n-heksan dan tambah hasil bilasan ke dalam larutan heksan dalam botol. Uapkan larutan heksan dalam penangas air pada suhu 50°C sampai kering. Segera tambah 25,0 ml pelarut dan aduk sampai residu larut.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 40°C.

**Laju alir.** 3 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 291 nm.

**Simpangan baku relatif.** Tidak lebih dari 5%.

Injeksi 20  $\mu$ l larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar ( $\mu$ g) dengan rumus:

$$25 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

- C = konsentrasi standar (mg/ml)  
 $A_S$  = area puncak larutan uji  
 $A_{Std}$  = area puncak larutan standar

### Vitamin K<sub>2</sub> (fitonadion)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut :

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campuran metanol dan air (95:5). Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan sediaan dalam metanol sampai konsentrasi 200 µg/ml (fitomenadion), jika perlu dengan bantuan sonikasi.

**Larutan standar.** Encerkan 10 ml larutan stok standar dengan metanol sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Larutan kesesuaian sistem.** Larutkan 65 mg α-tokoferil asetat dengan 75 ml metanol, tambah 10 ml larutan stok standar, encerkan dengan metanol sampai batas volume 100 ml.

**Larutan uji.** Uapkan 20 ml larutan (yang diperoleh pada penetapan vitamin A, metode 1), pada suhu ruang dengan vakum sampai mendekati kering. Larutkan dan encerkan residu dengan metanol sampai konsentrasi fitomenadion 20 µg/ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5 µm, ukuran 10 cm x 8 mm.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi antara α-tokoferil asetat dan fitonadion tidak kurang dari 5. Waktu retensi relatif 0,68 untuk α-tokoferil asetat dan 1,0 untuk fitonadion dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 100 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus:

$$C(LD) \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi standar sediaan (µg/ml)

L = jumlah fitomenadion pada sediaan (µg)

D = konsentrasi fitomenadion dalam larutan uji (µg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar.

2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pelarut.** Campuran metanol dan isopropanol (95:5).

**Fase gerak.** Campuran 800 ml metanol, 200 ml metilen klorida, 0,1 ml asam asetat glasial, 1,36 g seng klorida, dan 0,41 g natrium asetat.

**Larutan standar internal.** Larutkan menakuinon 4 (vitamin K<sub>2</sub>) dalam pelarut sampai konsentrasi 5 µg/ml. [Stok larutan menakuinon 4 (100 µg/ml) dapat disimpan selama 2 bulan dalam lemari pendingin.]

**Larutan stok standar.** Larutkan sediaan fitonadion dalam metilen klorida dengan bantuan sonikasi. Encerkan dengan pelarut sampai konsentrasi 5 µg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan 1 ml larutan stok standar dan 1 ml larutan standar internal dengan pelarut sampai volume 5,0 ml dan aduk. Saring dengan membran 0,45 µm atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 50 µg fitonadion, tambah 4 ml air, sumbat, dan aduk. Tempatkan tabung dalam penangas air pada suhu 60°C selama 5 menit. Buang rendaman dan aduk selama 1 menit biarkan larutan tetap panas. Tambah 8 ml alkohol dan aduk. Tempatkan tabung dalam penangas air pada suhu 60°C selama 5 menit. Buang rendaman, dan aduk selama 2 menit biarkan larutan tetap panas. Dinginkan pada suhu ruang. Encerkan dengan larutan standar internal setara dengan 5 µg/ml fitonadion. Tambah 20 ml petroleum benzin dan sumbat. Aduk selama 15 menit. Sentrifus untuk memisahkan kedua lapisan. Pindahkan lapisan atas dari petroleum benzin setara dengan 5—50 µg fitonadion ke dalam labu. Uapkan tabung dalam penangas air pada suhu 35°—45°C dengan aliran nitrogen sampai lemak residu hilang. Larutkan residu dalam pelarut sampai konsentrasi 1 µg/ml fitomenadion.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Paska kolom.** Serbuk seng, ukuran 3 cm x 4,6 mm atau yang sesuai. [Siapkan reaktor paska kolom jika diperlukan atur kesesuaian sistem].

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Fluorometri pada panjang Ex. 320 nm untuk Em. 420 nm untuk emisi.

**Kesesuaian sistem.** Waktu tambat relatif 1,0 untuk standar internal dan 1,4 untuk fitonadion; efisiensi kolom untuk puncak fitonadion tidak kurang dari 2500 plat teoritis; faktor tailing untuk puncak fitonadion tidak lebih dari 1,5; dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 25 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus :

$$SCD \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi standar (µg/ml)

D = volume larutan standar internal yang digunakan untuk larutan uji (ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

### β-Karoten

Lakukan dengan metode spektromotometer, menggunakan:

**Larutan kalium hidroksida.** Larutkan dan encerkan 58,8 g kalium hidroksida dalam air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan iodium.** Larutkan 10 mg iodium dengan sikloheksan dan aduk. Encerkan 10 ml larutan dengan sikloheksan sampai batas volume 100 ml dan aduk. Larutan harus segar.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 2 mg  $\beta$ -karoten, tambah 100 ml alkohol, 6 ml larutan kalium hidroksida dan aduk. Panaskan dengan refluks kondensor selama 45 menit. Dinginkan pada suhu ruang, tambah 170 ml larutan heksan dan aduk selama 30 menit. Biarkan selama 5—10 menit. Pindahkan lapisan organik ke dalam labu 500 ml. Pada lapisan air, tambah 170 ml heksan dan aduk selama 20 menit. Biarkan selama 10 menit. Buang lapisan air dan campur lapisan organik. Pada fase organik, tambah 3 g natrium sulfat anhidrat dan aduk. Pindahkan larutan setara dengan 100  $\mu$ g  $\beta$ -karoten ke dalam labu -50 ml. Uapkan dengan aliran nitrogen sampai kering dan segera tambah sikloheksan. Tambah 2 ml larutan iodium dan panaskan selama 15 menit dalam penangas air pada suhu 65°C. Dinginkan dan encerkan dengan sikloheksan aduk.

Ukur serapan pada panjang gelombang maksimum 452 nm, gunakan sikloheksan sebagai blanko. Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$LD \left( \frac{A_s}{223} \right)$$

Keterangan :

- L = jumlah  $\beta$ -karoten pada sediaan (mg)  
 D = konsentrasi  $\beta$ -karoten pada larutan uji (mg/ml)  
 A<sub>s</sub> = serapan larutan uji  
 223 = serapan  $\beta$ -karoten pada panjang gelombang 452 nm

#### Asam askorbat, kalsium askorbat dan natrium askorbat

Pada sediaan setara dengan 100 mg asam askorbat, tambah 75 ml asam metafosfat asetat. Sumbat dan aduk selama 30 menit. Encerkan dengan air dan aduk. Sentrifus sampai supernatan. Pada 4 ml larutan, tambah 5 ml asam metafosfat-asetat dan titrasi dengan larutan standar diklorofenol-indofenol sampai warna merah muda tetap selama 5 detik. Standarisasi larutan diklorofenol-indofenol dengan campuran 5,5 ml asam metafosfat-asetat dan 15 ml air.

#### Vitamin H (biotin)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut :

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan uji.** Larutkan sediaan setara dengan 1 mg biotin dalam 3 ml dimetil sulfoksida, hangatkan di atas penangas air pada suhu 60°—70°C selama 5 menit. Sonikasi selama 5 menit dan encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 67 mg standar biotin dalam dimetilsulfoksida sampai batas volume 200 ml. Encerkan larutan dengan air sampai konsentrasi 5  $\mu$ g/ml.

**Kolom.** Oktilsilil, 3- $\mu$ m ukuran 15 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 85 ml asetonitril, 1 g natrium

perklorat, dan 1 ml asam fosfat, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml, aduk, saring. Jika perlu buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Laju alir.** 1,2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 200 nm.

**Sistem kromatografik.** Simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 100  $\mu$ l larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar ( $\mu$ g) dengan rumus :

$$200 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

- C = konsentrasi biotin pada larutan standar ( $\mu$ g/ml)  
 A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji  
 A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

2. Lakukan dengan metode mikrobiologi menggunakan:

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan standar biotin dalam alkohol 50% sampai konsentrasi 50  $\mu$ g/ml dan aduk. Simpan larutan dalam lemari pendingin.

**Larutan standar.** Encerkan larutan stok standar dengan air sampai konsentrasi 0,1 ng/ml.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 100  $\mu$ g biotin, tambah 3 ml alkohol 50%, dan aduk. Panaskan dalam penangas air pada suhu 60°—70°C selama 5 menit. Sonikasi selama 5 menit, encerkan dengan alkohol 50% sampai batas volume 200 ml dan saring. Encerkan larutan dengan air sampai konsentrasi 0,1 ng/ml.

**Larutan asam-kasein hidrolisat.** Campurkan 100 g vitamin bebas kasein dengan 500 ml asam hidroklorida 6M dan refluks selama 8—12 jam. Suling dengan pengurangan tekanan (untuk menghilangkan asam hidroklorida) sampai terbentuk pasta. Larutkan pasta dalam air, atur pH 3,5  $\pm$  0,1 dengan natrium hidroksida 1 M dan tambah air sampai batas volume 1000 ml. Tambah 20 g arang aktif, aduk selama 1 jam dan saring ke dalam botol. Ulangi proses dengan arang aktif. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak lebih dari 10°C.

**Larutan sistin-triptofan.** Suspensikan 4,0 g L-sistin dalam 1,0 g L-triptofan (atau 2,0 g D,L-triptofan) dalam 700 ml air, panaskan pada suhu 70°—80°C, dan tambah secara perlahan larutan asam hidroklorida (1 dalam 2), aduk. Dinginkan dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak lebih dari 10°C.

**Larutan urasil-guanin-adenin.** Larutkan 200 mg adenin sulfat, guanin hidroklorida, dan urasil dalam 10 ml asam hidroklorida 4M sambil dipanaskan, dinginkan, dan tambah air sampai batas volume 200 ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan polisorbitat 80.** Larutkan dan encerkan 25 g polisorbitat 80 dalam alkohol sampai batas volume 250 ml.

**Larutan kalsium pantotenat.** Larutan kalsium pantotenat dalam alkohol 50% yang mengandung 10 µg/ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan riboflavin-tiamin hidroklorida.** Larutan riboflavin dan tiamin hidroklorida dalam asam asetat 0,02 M yang mengandung 20 µg/ml riboflavin dan 10 µg/ml tiamin hidroklorida. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak lebih 10°C.

**Larutan asam p-aminobenzoat-niasin-piridoksin hidroklorida.** Campuran air dan alkohol netral (3:1) yang mengandung 10 µg/ml asam p-aminobenzoat, 50 µg/ml niasin dan 40 µg/ml piridoksin hidroklorida. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan garam 1.** Larutkan dan encerkan 25 g kalium fosfat dan 25 g dikalium fosfat dalam air sampai batas volume 500 ml. Tambah 5 tetes asam hidroklorida dan aduk. Simpan botol dalam toluen.

**Larutan garam 2.** Larutkan dan encerkan 10 g magnesium sulfat, 0,5 g natrium klorida, 0,5 g besi sulfat dan 0,5 g mangan sulfat dalam air sampai batas volume 500 ml. Tambah 5 tetes asam hidroklorida dan aduk. Simpan botol dalam toluen.

**Larutan basal stok medium.** Campur 25 ml larutan asam-kasein hidrolisat, 25 ml larutan sistin-triptofan, 0,25 ml larutan polisorbitat 80, 10 g dekstrosa anhidrat, 5 g natrium asetat anhidrat, 5 ml larutan urasil-guanin-adenin, 5 ml larutan kalsium pantotenat, 5 ml larutan riboflavin-tiamin hidroklorida, 5 ml larutan asam p-aminobenzoat-niasin-piridoksin hidroklorida, 5 ml larutan garam (1), 5 ml larutan garam (2), atur pH  $6,8 \pm 0,1$  dengan natrium hidroksida 1 M dan encerkan dengan air sampai batas volume 250 ml.

**Stok kultur *Lactobacillus plantarum*.** Larutkan 2 g sari ragi dalam 100 ml air, tambah 500 mg dekstrosa anhidrat, 500 mg natrium asetat anhidrat dan 1,5 g agar. Panaskan campuran di atas penangas air dengan pengadukan sampai agar larut. Pindahkan 10 ml larutan panas pada tabung uji, sumbat, sterilkan pada otoklaf 121°C dan biarkan tabung sampai dingin dalam posisi tegak lurus. Siapkan kultur pada tiga atau lebih tabung, gunakan kultur murni *Lactobacillus plantarum*, inkubasi selama 16–24 jam pada suhu 30°–37°C dan tetap pada suhu  $\pm 0,5^\circ\text{C}$ . Simpan dalam lemari pendingin. Siapkan stok kultur segar setiap minggunya dan jangan gunakan untuk inokulum jika kultur lebih dari 1 minggu.

**Medium kultur.** Setiap tabung uji mengandung 5 ml larutan basal stok medium, tambah 5 ml air yang mengandung 0,5 mg biotin. Sumbat dengan katun, sterilkan dengan otoklaf 121°C dan dinginkan.

**Inokulum.** [Suspensi beku *Lactobacillus plantarum* dapat digunakan sebagai stok kultur untuk menghasilkan inokulum yang sebanding dengan

kultur segar]. Pindahkan secukupnya dari stok kultur *Lactobacillus plantarum* ke dalam tabung steril yang mengandung 10 ml medium kultur. Inkubasi pada suhu 30°–37°C selama 16–24 jam.

**Prosedur.** Siapkan enam tabung, tambah larutan standar ke setiap tabung yang berbeda masing-masing 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0 dan 5,0 ml. Pada setiap tabung dan empat tabung kosong lain, tambah 5 ml larutan basal stok medium dan air sampai volume 10 ml. Pada empat tabung yang kosong, tambahkan larutan uji 2–3 kali larutan standar termasuk 2,0; 3,0; dan 4,0 ml. Pada setiap tabung, tambah 5 ml larutan basal stok medium dan air sampai volume 10 ml. Sumbat semua tabung, sterilkan pada otoklaf 121°C selama 5 menit. Dinginkan, tambah 1 tetes inokulum pada setiap tabung, kecuali dua dari empat tabung tidak mengandung larutan standar (blanko) dan aduk. Inkubasi pada suhu 30°–37°C selama 16–24 jam inkubasi. Dalam 2 jam pertama tidak terjadi kekeruhan dalam tabung yang mengandung standar dengan konsentrasi paling tinggi.

Ukur %T masing-masing tabung dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540–660 nm.

**Perhitungan.** Lakukan perhitungan dengan bantuan kurva konsentrasi-respon (%T) atau dengan bantuan program yang tersedia pada peralatan.

3. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Dapar.** Pada 800 ml air dan 100 ml tritilamin, tambah 80 ml asam fosfat 85%, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml dan aduk.

**Fase gerak.** Pada 80 ml asetonitril dan 10 ml dapar, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml, aduk dan saring. Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 25 mg standar biotin dengan air sampai batas volume 250 ml dan aduk. Pada 1,5 ml larutan, encerkan dengan air sampai konsentrasi 0,6 µg/ml biotin. [Gunakan sebagian larutan standar untuk penentuan angka temuan kembali pada prosedur ekstraksi fasa-padat (*solid phase extraction*)].

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan setara dengan 60 µg biotin dengan air (jika perlu sonikasi selama 30–40 menit) sampai batas volume 100 ml dan saring. Atur pH 6,0–7,0 dengan asam asetat atau natrium hidroksida 0,1 M.

**Ekstraksi fasa-padat (*solid-phase extraction*).** [Sebelum digunakan, bilas kolom dengan 2 ml metanol. Ekuilibrasikan dengan 2 ml air]: pipet masing-masing 5 ml larutan uji dan larutan standar ke dalam kolom ekstraksi fasa-padat yang berbeda (mengandung penukar ion dan fase terbalik kopolimer N-vinilpirolidon dan divinilbenzen). Bilas kolom dengan 10 ml metanol (30% v/v). Alirkan sekitar 4,9 ml pada metanol (30% v/v dalam asam hidroklorida 0,1 M) ke dalam kolom. Campur eluat ke dalam labu ukur-5 ml, yang mengandung 100 µl natrium asetat (40% v/v) dan encerkan

dengan metanol (30% v/v dalam asam hidroklorida 0,1 M) sampai volume 5,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 atau yang sesuai.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 200 nm.

**Kesesuaian sistem.** Faktor tailing tidak lebih dari 1,5; dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 2%.

Injek 100 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus :

$$100 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi biotin dalam larutan standar (µg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>std</sub> = area puncak larutan standar

### Vitamin B<sub>12</sub> (sianokobalamin)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campuran air dan metanol (65:35). Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar.** Larutkan standar sianokobalamin dalam air sampai konsentrasi 10 µg/ml. Encerkan stok larutan dengan air sampai konsentrasi 1 µg/ml.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan setara 100 µg sianokobalamin dengan air sampai batas volume 250 ml. Saring dan gunakan hasil saringan.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5 µm, ukuran 15 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir** 0,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm.

**Kesesuaian sistem.** Simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 200 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus :

$$100 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi sianokobalamin dalam larutan standar (µg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>std</sub> = area puncak larutan standar

2. Lakukan dengan metode mikrobiologi, menggunakan:

**Larutan stok standar sianokobalamin.** Larutkan

standar sianokobalamin dalam alkohol 25% sampai konsentrasi 1 µg/ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan standar.** Encerkan larutan stok standar sianokobalamin dengan air sampai konsentrasi 0,01 dan 0,04 ng/ml. Larutan harus segar.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 1,0 µg sianokobalamin, tambah 25 ml larutan pengekstrak (yang mengandung 1,29 g natrium fosfat dibasa, 1,1 g asam sitrat anhidrat dan 1 g natrium metabisulfat dalam 100 ml), sterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 10 menit. Saring atau sentrifus jika diperlukan. Encerkan hasil saringan atau supernatan dengan air sampai konsentrasi antara 0,01 dan 0,04 mg/ml.

**Larutan asam kasein-hidrolisat.** Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar kalsium pantotenat, metode 2.

**Larutan asparagin.** Larutkan dan encerkan 2,0 g L-asparagin dalam air sampai batas volume 200 ml. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan adenin-guanin-urasil.** Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar kalsium pantotenat, metode 2.

**Larutan xantin.** Larutkan 0,2 g xantin dalam sekitar 30 ml air, panaskan pada suhu 70°C, tambah 6 ml amonium hidroksida 6M dan aduk sampai larut. Dinginkan dan tambah air sampai batas volume 200 ml. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan garam 1.** Larutkan dan encerkan 10 g kalium fosfat monobasa dan 10 g kalium fosfat dibasa dalam air sampai batas volume 200 ml dan tambah 2 tetes asam hidroklorida. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan garam 2.** Larutkan 4 g magnesium sulfat, 0,2 g natrium klorida, 0,2 g besi sulfat dan 0,2 g mangan sulfat dalam air sampai batas volume 200 ml dan tambah 2 tetes asam hidroklorida. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan polisorbit 80.** Larutkan dan encerkan 20 g polisorbit 80 dalam alkohol sampai batas volume 200 ml. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan vitamin 1.** Larutkan dan encerkan 10 mg riboflavin, 10 mg tiamin hidroklorida, 100 µg biotin dan 20 mg niasin dalam asam asetat glasial 0,02 M sampai volume 400 ml. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan vitamin 2.** Larutkan dan encerkan 20 mg asam p-aminobenzoat, 10 mg kalsium pantotenat, 40 mg piridoksin hidroklorida, 40 mg piridoksal hidroklorida, 8 mg piridoksamin dihidroklorida dan 2 mg asam folat dalam campuran air dan alkohol netral (3:1) sampai volume 400 ml. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan basal stok medium.** Larutkan bahan-bahan di bawah ini dalam asam hidroklorida

secukupnya sampai larut. Tambah 100 ml air, aduk dan larutkan dekstrosa, natrium asetat dan asam askorbat. Saring, jika diperlukan, tambah larutan polisorbitat 80. Atur pH 5,5—6,0 dengan natrium hidroksida 1 M dan tambah air murni sampai batas volume 250 ml.

**Komposisi medium.** Campur 0,1 g L-sistin, 0,05 g L-triptofan, 10 ml asam hidroklorida 1 M, 5 ml larutan adenine-guanin-urasil, 5 ml larutan xantin, 10 ml larutan vitamin 1, 10 ml larutan vitamin 2, 5 ml larutan garam (1), 5 ml larutan garam (2), 5 ml larutan asparagin, 25 ml larutan asam kasein-hidrolisat, 10 g dekstrosa anhidrat, 5 g natrium asetat anhidrat, 1 g asam askorbat dan 5 ml larutan polisorbitat 80.

**Jus tomat.** Sentrifus jus tomat yang dijual secara komersial sampai kotoran hilang. Saring sampai diperoleh sampai diperoleh hasil saringan berwarna kekuning-kuningan. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Medium kultur.** Larutkan 0,75 g sari ragi, 0,75 g pepton, 1 g dekstrosa anhidrat dan 0,2 g kalium fosfat monobasa dalam sekitar 60 ml air. Tambah 10 ml jus tomat dan 1 ml larutan polisorbitat 80. Atur pH 6,8 dengan natrium hidroksida 1 M dan tambah air sampai batas volume 100 ml. Pindahkan 10 ml larutan dalam tabung uji dan sumbat dengan katun. Sterilkan pada otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan dengan cepat untuk menghindari perubuhan warna yang dihasilkan dari medium yang terlalu panas.

**Suspensi medium.** Encerkan larutan basal stok medium dengan air dengan volume yang sama. Pindahkan 10 ml medium ke dalam tabung uji. Sterilkan pada otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan dengan cepat untuk menghindari perubahan warna yang dihasilkan dari medium yang terlalu panas.

**Stokkultur *Lactobacillus leichmannii*.** Inokulasikan *Lactobacillus leichmannii* ke dalam 10 ml medium kultur yang steril (mengandung 1—1,5 g agar/100 ml). Inkubasi pada suhu 30°—40°C selama 16—24 jam. Simpan dalam lemari pendingin. Gunakan stok kultur yang segar untuk penetapan kadar.

**Inokulum.** [Suspensi beku *Lactobacillus leichmannii* atau *Lactobacillus plantarum* dapat digunakan sebagai stok kultur untuk menghasilkan inokulum yang sebanding dengan kultur segar]. Pindahkan secukupnya dari stok kultur *Lactobacillus leichmannii* ke dalam tabung steril yang mengandung 10 ml medium kultur. Inkubasi pada suhu 300°—400°C selama 16—24 jam. Suspensikan biakan dalam 5 ml suspensi medium steril dan campur. Atur volume dengan garam fisiologis sehingga campuran 1 berbanding 20 mempunyai nilai %T = 70% pada panjang gelombang 530 nm, larutan garam fisiologis sebagai blanko. Encerkan larutan sampai 1 berbanding 400 menggunakan larutan stok basal medium.

**Prosedur.** Pada tabung terpisah, tambah masing-

masing 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0; dan 5,0 ml larutan standar. Pada setiap tabung tersebut dan empat tabung lain, tambah 5,0 ml larutan stok basal medium dan air sampai volume 10 ml. Pada tabung yang terpisah, tambah 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 dan 4,0 ml larutan uji. Pada setiap tabung tersebut dan empat tabung lain, tambah 5,0 ml larutan stok basal medium dan air sampai volume 10 ml. Sterilkan tabung pada otoklaf pada suhu 121°C selama 5 menit. Tambah 0,5 ml inokulum pada setiap tabung yang telah disiapkan, kecuali dua tabung untuk blanko. Inkubasi pada suhu 300°—400°C selama 16—24 jam. Panaskan tabung pada suhu 80°C selama 5 menit. Dinginkan pada suhu ruang.

Ukur %T dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm selama 30 detik.

**Perhitungan.** Lakukan perhitungan dengan bantuan kurva konsentrasi-respon (%T) atau dengan bantuan program yang tersedia pada peralatan.

### Asam folat

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pereaksi (1).** Larutan tetrabutylamonium hidroksida 25% dalam metanol.

**Pereaksi (2).** Larutkan dan encerkan 5 g asam pentetat dalam natrium hidroksida 1 M sampai batas volume 50 ml.

**Fase gerak.** Larutkan 2 g kalium fosfat monobasa dalam 650 ml air. Tambah 12 ml pereaksi (1), 7 ml asam fosfat 3 M dan 240 ml metanol. Dinginkan pada suhu ruang, atur pH 7,15 dengan asam fosfat dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml, aduk dan saring. [Periksa kembali pH sebelum digunakan, jika diperlukan buat penyesuaian kandungan metanol dan air (1%—3%) pada fase gerak untuk memperoleh pemisahan dan garis dasar asam folat dan standar internal yang baik].

**Larutan standar internal.** Pada 40 mg metilparaben tambah 220 ml metanol aduk sampai larut. Larutkan 2 g kalium fosfat monobasa dalam 300 ml air. Campurkan kedalam larutan yang bersi metil paraben, tambah 300 ml air dan aduk. Tambah 19 ml pereaksi (1), 7 ml asam fosfat 3 M dan 30 ml pereaksi (2). Atur pH 9,8 dengan amonia. Alirkan nitrogen kedalam larutan selama 30 menit, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml dan aduk.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar asam folat dalam larutan standar internal sampai konsentrasi 0,2 mg/ml. Encerkan 2 ml dengan larutan standar internal sampai volume 25 ml dan aduk.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan setara dengan 0,4 mg asam folat dalam 25 ml larutan standar internal, aduk selama 10 menit,



dan sentrifus. Saring supernatan dan gunakan hasil saringan untuk penetapan.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 30 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

Injek larutan standar, waktu tambat relatif sekitar 0,8 untuk asam folat dan 1,0 untuk metilparaben; simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 15 µl larutan standar, larutan standar internal dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus :

$$25 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi asam folat larutan standar, (mg/ml)

$A_s$  dan  $A_{Std}$  = perbandingan area asam folat terhadap metilparaben pada larutan uji dan larutan standar

- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pereaksi.** Larutkan 7,5 g dinatrium edetat dalam 500 ml air (yang mengandung 10 ml amonium hidroksida).

**Pelarut pengencer.** Amonium hidroksida (60 µg/ml).

**Fase gerak.** Encerkan 0,4 ml trietilamin, 15 ml asam asetat glasial dan 350 ml metanol dengan natrium 1-heksansulfonat 0,008 M sampai batas volume 2000 ml dan saring. Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan standar asam folat ke dalam pelarut pengencer sampai konsentrasi 60 µg/ml. Larutan harus segar.

**Larutan standar.** Pada 5 ml larutan stok standar, tambah 10 ml metanol dan 35 ml pereaksi. Aduk selama 15 menit di dalam penangas air pada suhu 60°C, dinginkan. Saring (buang beberapa ml hasil saringan pertama) dan gunakan hasil saringan.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 0,3 mg asam folat, tambah 10 ml metanol dan 35 ml pereaksi. Aduk selama 15 menit didalam penangas air pada suhu 60°C, dinginkan. Saring (buang beberapa ml hasil saringan pertama), gunakan hasil saringan.

**Kolom.** Oktilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm, suhu 59°C.

**Kecepatan alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 270 nm.

Injek larutan standar, Simpangan baku tidak lebih dari 2,0%.

Injek 5 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus :

$$45 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi asam folat dalam larutan standar (mg/ml)

$A_s$  = area puncak larutan uji

$A_{Std}$  = area puncak larutan standar

### Kalsium pantotenat

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campur air dan asam fosfat (1000:1). Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar internal.** Larutkan 80 mg asam p-hidroksibenzoat dalam 3 ml alkohol. Tambah 50 ml air dan 7,1 g natrium fosfat dibasa. Encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml dan aduk. Atur pH 6,7, dengan asam fosfat.

**Larutan standar.** Larutkan standar kalsium pantotenat dengan larutan standar internal sampai konsentrasi 0,6 mg/ml.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 15 mg kalsium pantotenat, tambah 25 ml larutan standar internal, aduk selama 10 menit dan saring. Gunakan hasil saringan.

**Kolom.** Oktadesilsilil, 25 cm x 3,9 mm.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 210 nm.

Injek larutan standar, waktu tambat relatif adalah 0,5 untuk kalsium pantotenat dan 1,0 untuk asam p-hidroksibenzoat; simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek larutan standar, Simpangan baku tidak lebih dari 2,0%.

Injek 10 µl larutan standar, larutan standar internal dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus :

$$25 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi kalsium pantotenat dalam larutan standar (mg/ml)

$A_s$  dan  $A_{Std}$  = perbandingan area kalsium pantotenat terhadap parahidroksibenzoat pada larutan uji dan larutan standar

- Lakukan dengan metode mikrobiologi, menggunakan:

**Larutan stok standar.** Larutkan 50 mg kalsium pantotenat (sebelumnya dikeringkan dan disimpan

dalam tempat gelap diatas fosfor pentoksida) dalam 500 ml air. Tambah 10 ml asam asetat 0,2 M, 100 ml larutan natrium asetat (1 dalam 60), dan encerkan dengan air sampai konsentrasi 50 µg/ml. Simpan botol dalam toluen di lemari pendingin.

**Larutan standar.** Eencerkan larutan stok standar dengan air sampai konsentrasi 0,01—0,04 µg/ml kalsium pantotenat.

**Larutan uji.** Larutkan sediaan setara 50 mg kalsium pantotenat dalam 500 ml air. Tambah 10 ml asam asetat 0,2 M, 100 ml larutan natrium asetat (1 dalam 60), encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml dan saring. Encerkan larutan sampai konsentrasi setara dengan larutan standar.

**Larutan asam-kasein hidrolisat.** Campurkan 100 g vitamin bebas kasein dengan 500 ml asam hidroklorida 6M dan refluks selama 8—12 jam. Suling dengan pengurangan tekanan (untuk menghilangkan asam hidroklorida) sampai terbentuk pasta. Larutkan pasta dalam air, atur pH  $3,5 \pm 0,1$  dengan natrium hidroksida 1 M dan tambah air sampai batas volume 1000 ml. Tambah 20 g arang aktif, aduk selama 1 jam dan saring ke dalam botol. Ulangi proses dengan arang aktif. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak lebih dari 10°C.

**Larutan sistin-triptofan.** Suspensikan 4,0 g L-sistin dalam 1,0 g L-triptofan (atau 2,0 g D,L-triptofan) dalam sekitar 700 ml air, panaskan pada suhu 70°—80°C, tambah setetes demi setetes larutan asam hidroklorida (1 dari 2), dan aduk. Dinginkan dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak lebih dari 10°C.

**Larutan urasil-guanin-adenin.** Larutkan 200 mg adenin sulfat, guanin hidroklorida, dan urasil dalam 10 ml asam hidroklorida 4M sambil dipanaskan, dinginkan, dan tambah air sampai batas volume 200 ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan polisorbate 80.** Larutkan dan encerkan 25 g polisorbate 80 dalam alkohol sampai batas volume 250 ml.

**Larutan riboflavin-tiamin hidroklorida-biotin.** Larutan riboflavin dan tiamin hidroklorida dan biotin dalam asam asetat 0,02 M yang mengandung 20 µg/ml riboflavin dan 10 µg/ml tiamin hidroklorida dan 0,04 µg/ml biotin. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak lebih 10°C.

**Larutan asam p-aminobenzoat-niasin-piridoksin hidroklorida.** Campuran air dan alkohol netral (3:1) yang mengandung 10 µg/ml asam p-aminobenzoat, 50 µg/ml niasin dan 40 µg/ml piridoksin hidroklorida. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan garam 1.** Larutkan dan encerkan 25 g kalium fosfat monobasa dan 25 g kalium fosfat dibasa dalam air sampai batas volume 500 ml. Tambah 5 tetes asam hidroklorida dan aduk. Simpan botol dalam toluen.

**Larutan garam 2.** Larutkan dan encerkan 10 g magnesium sulfat, 0,5 g natrium klorida, 0,5 g besi sulfat dan 0,5 g mangan sulfat dalam air sampai batas volume 500 ml. Tambah 5 tetes asam hidroklorida dan aduk. Simpan botol dalam toluen.

**Stok kultur *Lactobacillus plantarum*.** Larutkan 2 g sari ragi dalam 100 ml air, tambah 500 mg dekstrosa anhidrat, 500 mg natrium asetat anhidrat dan 1,5 g agar. Panaskan campuran di atas penangas air dengan pengadukan sampai agar larut. Pindahkan 10 ml larutan panas pada tabung uji, sumbat, sterilkan pada otoklaf 121°C selama 15 menit dan biarkan tabung sampai dingin dalam posisi tegak lurus. Siapkan stok kultur pada tiga atau lebih tabung, gunakan kultur murni *Lactobacillus plantarum*, inkubasi selama 16—24 jam pada suhu 30°—37°C. Simpan dalam lemari pendingin. Siapkan stok kultur segar setiap minggunya dan jangan gunakan untuk inokulum jika kultur lebih dari 1 minggu.

**Medium kultur.** Setiap tabung uji mengandung 5 ml larutan basal stok medium, tambah 5 ml air yang mengandung 0,5 mg kalsium pantotenat. Sumbat dengan katun, sterilkan pada otoklaf 121°C selama 15 menit dan dinginkan.

**Inokulum.** [Suspensi beku *Lactobacillus plantarum* dapat digunakan sebagai stok kultur untuk menghasilkan inokulum yang sebanding dengan kultur segar]. Pindahkan secukupnya dari stok kultur *Lactobacillus plantarum* ke dalam tabung steril yang mengandung 10 ml medium kultur. Inkubasi pada suhu 30°—37°C selama 16—24 jam.

**Larutan stok basal medium.** Campur 25 ml larutan asam-kasein hidrolisat, 25 ml larutan sistin-triptofan, 0,25 ml larutan polisorbate 80, 10 g dekstrosa anhidrat, 5 g natrium asetat anhidrat, 5 ml larutan urasil-guanin-adenin, 5 ml larutan kalsium pantotenat, 5 ml larutan riboflavin-tiamin hidroklorida, 5 ml larutan asam p-aminobenzoat-niasin-piridoksin hidroklorida, 5 ml larutan garam (1), 5 ml larutan garam (2), atur pH  $6,8 \pm 0,1$  dengan natrium hidroksida 1 M dan encerkan dengan air sampai batas volume 250 ml.

**Prosedur.** Siapkan enam tabung, tambah ke setiap tabung yang berbeda 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0 dan 5,0 ml larutan standar. Pada setiap tabung dan empat tabung kosong lain, tambah 5 ml larutan basal stok medium dan air sampai volume 10 ml.

Pada empat tabung yang kosong, tambahkan larutan uji 2—3 kali larutan standar termasuk 2,0; 3,0; dan 4,0 ml. Pada setiap tabung, tambah 5 ml larutan basal stok medium dan air sampai volume 10 ml.

Sumbat semua tabung, sterilkan pada otoklaf 121°C selama 15 menit. Dinginkan, tambah 1 tetes inokulum pada setiap tabung, kecuali dua dari empat tabung tidak mengandung larutan standar (blanko) dan aduk. Inkubasi pada suhu 30°—37°C selama 16—24 jam inkubasi. Dalam 2 jam pertama tidak terjadi kekeruhan dalam tabung yang mengandung standar dengan konsentrasi paling tinggi.

Ukur %T dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540—660 nm.

**Perhitungan.** Lakukan perhitungan dengan bantuan kurva konsentrasi-respon (%T) atau dengan bantuan program yang tersedia pada peralatan.

- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Dapar fosfat.** Larutkan dan encerkan 10 g kalium fosfat monobasa dalam air sampai batas volume 2000 ml. Atur pH 3,5 dengan sam fosfat.

**Fase gerak.** Campur dapar fosfat dan metanol (90:10). Jika perlu, lakukan penyesuaian jika diperlukan (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutan standar kalsium pantotenat dalam air sampai konsentrasi 0,25 mg/ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan standar.** Encerkan larutan stok standar dengan air sampai konsentrasi 40 µg/ml.

**Larutan uji.** Larutkan sediaan setara 10 mg kalsium pantotenat dengan 50 ml metanol, dan encerkan dengan air sampai batas volume 250 ml dan saring.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 3,9 mm, atau yang sesuai, suhu 50°C.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 205 nm.

Injek larutan standar, simpangan baku relatif tidak lebih dari 3,0%.

Injek 25 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$250 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi kalsium pantotenat dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

### Niasin atau niasinamid, piridoksin hidroklorida, riboflavin dan tiamin hidroklorida

#### Vitamin B<sub>3</sub> (niasin)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan pengencer.** Campur air, asetonitril, dan asam asetat glasial (94:5:1).

**Fase gerak.** Campur air, metanol, dan asam asetat glasial (73:27:1) yang mengandung 140 mg natrium 1-heksansulfonat per 100 ml. Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar.** Pada 80 mg standar niasinamid, 20 mg standar piridoksin hidroklorida, 20 mg

standar riboflavin, dan 20 mg standar tiamin hidroklorida, tambah 180 ml larutan pengencer. Rendam labu dalam penangas air pada suhu 65°—70°C selama 10 menit sambil diaduk sampai larut. Dinginkan segera dalam air dingin selama 10 menit pada suhu ruang, encerkan dengan larutan pengencer sampai batas volume 200 ml dan aduk.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara 10 mg niasinamid dan 2,5 mg setiap piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin hidroklorida, tambah 25 ml larutan pengencer, dan aduk selama 30 detik sampai larut. Rendam tabung sentrifus dalam penangas air pada suhu 65°—70°C, panaskan selama 5 menit, dan aduk selama 30 detik. Masukkan kembali tabung ke dalam penangas air, panaskan kembali selama 5 menit, dan aduk selama 30 detik. Saring larutan, dinginkan pada suhu ruang, dan gunakan saringan. [Catatan - gunakan saringan dalam jangka waktu 3 jam].

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 3,9 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

Injek larutan standar, waktu tambat relatif dari niasinamid, piridoksin, riboflavin, dan tiamin adalah sekitar 0,3; 0,5; 0,8; dan 1,0; simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 25 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$25 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi niasin dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan pengeksrak.** Pada 1 ml asam asetat glasial dan 2,5 g dinatrium edetat larutkan dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml dan aduk. Campur larutan dengan metanol (75:25).

**Fase gerak.** Natrium asetat 0,1M (larutkan 13,6 g natrium asetat ke dalam 1000 ml air. Atur pH 5,4 dengan asam asetat dan aduk. Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi), tambah metanol sampai konsentrasi 1%.

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan standar niasin dalam larutan pengeksrak sampai konsentrasi 1 mg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan 5 ml larutan stok standar dengan larutan pengeksrak sampai volume 25 ml.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 2 mg riboflavin atau setara dengan 2 mg piridoksin atau setara

dengan 20 mg niasin atau niasinamid, tambah 100 ml larutan pengestrak dan aduk selama 20 menit dalam penangas air pada suhu 70°–75°C, dan panaskan selama 20 menit. Aduk selama 30 detik, dinginkan pada suhu ruang dan saring. Gunakan hasil saringan.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Injek standar, simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%. Bilas kolom dengan metanol.

Injek 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$100 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi niasin dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

- Lakukan dengan metode kromatografi cair (untuk niasin atau niasinamida, piridoksin hidroklorida, riboflavin dan tiamin).

**Pereaksi.** Larutan 25 g dinatrium edetat dalam 1000 ml air.

**Fase gerak.** Pada 0,4 ml trietilamin, 15,0 ml asam asetat glasial dan 350 ml metanol, tambah natrium 1-heksansulfonat 0,008M sampai batas volume 2000 ml dan aduk. Saring dan gunakan hasil saringan. Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan standar niasin atau niasinamid, piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin hidroklorida dengan pereaksi (jika perlu, panaskan), sampai konsentrasi 1,5 mg/ml (niasin atau niasinamid), 0,24 mg/ml (piridoksin hidroklorida), 0,08 mg/ml (riboflavin) dan 0,24 mg/ml (tiamin hidroklorida).

**Larutan standar.** Pada 5 ml larutan stok standar, tambah 10 ml campuran metanol dan asam asetat glasial (9 : 1) dan 30 ml campuran metanol dan etilen glikol (1 : 1). Sumbat, aduk selama 15 menit dalam penangas air pada suhu 60°C, dan dinginkan. Saring dan buang beberapa ml hasil saringan pertama.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara 7,5 mg niasin atau niasinamid, 1,2 mg piridoksin hidroklorida, 0,4 mg riboflavin, dan 1,2 mg tiamin hidroklorida. Tambah 10 ml campuran metanol dan asam asetat glasial (9 : 1), 30 ml campuran metanol dan etilen glikol (1 : 1). Sumbat dan aduk selama 15 menit dalam penangas air pada suhu 60°C, dan dinginkan. Saring dan buang beberapa ml hasil saringan pertama.

**Kolom.** Oktilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai. Suhu 50°C.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 270 nm.

Injek standar; simpangan baku relatif tidak lebih dari 2%.

Injek 5 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$40 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi niasin dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

### Vitamin B<sub>3</sub> (niasinamid)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lihat metode 1 untuk niasin.
- Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan: Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar niasin, metode 2, menggunakan: larutan pengestrak, fase gerak, larutan stok standar, larutan standar, larutan uji, dan sistem kromatografik.

Injek 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$100 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi niasinamid dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

- Lihat metode 3 untuk niasin.

### Vitamin B<sub>6</sub> (piridoksin hidroklorida)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lihat metode 1 untuk niasin.
- Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan : Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar niasin, metode 2, menggunakan: larutan pengestrak, fase gerak.

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan standar piridoksin hidroklorida dalam larutan pengestrak sampai konsentrasi 0,1 mg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan 5 ml larutan stok standar dengan larutan pengestrak sampai volume 25 ml dan aduk.

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasin, metode 2.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Injek standar, simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$100 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi piridoksin hidroklorida dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>S</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

3. Lihat metode 3 untuk niasin.

### Vitamin B<sub>2</sub> (riboflavin)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lihat metode 1 untuk niasin.
2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan :

**Larutan pengekstrak.** Lihat metode 2 untuk niasin.

**Fase gerak.** Larutkan 6,8 g natrium asetat dalam 1000 ml air dan aduk. Campur larutan dengan metanol (65:35). Tambah 2 ml trietilamin, atur pH 5,2 dengan asam asetat glasial. Jika perlu, lakukan penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Pada 20 mg standar riboflavin, tambah 180 ml larutan pengekstrak dan panaskan selama 5 menit dalam penangas air pada suhu 65°—75°C dan aduk. (Jika diperlukan ulangi proses tersebut sampai larut). Dinginkan dalam air dingin pada suhu ruang, encerkan dengan larutan pengekstrak sampai batas volume 2000 ml dan aduk.

**Larutan standar.** Encerkan 5 ml larutan stok standar dengan larutan pengekstrak sampai volume 25 ml dan aduk.

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasin, metode 2.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Injek larutan standar, simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$100 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi riboflavin dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>S</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

3. Lihat metode 3 untuk niasin.

### Vitamin B<sub>1</sub> (tiamin)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lihat metode 1 untuk niasin.
2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Larutkan 1,88 g natrium 1-heksansulfonat dalam 1000 ml asam fosfat (0,1%). Campur larutan dengan asetonitril (92:18). Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan standar tiamin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,2 M sampai konsentrasi 0,1 mg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan 5 ml larutan stok standar dengan asam hidroklorida 0,2 M sampai volume 25 ml.

**Larutan uji.** Larutkan sediaan setara dengan 2 mg tiamin dalam 100 ml asam hidroklorida 0,2 M, aduk selama 15 menit dan didihkan selama 30 menit. Dinginkan pada suhu ruang, dan saring. Gunakan saringan.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Injek standar, simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$100 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi tiamin dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>S</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

### Kalsium, kromium, tembaga, fluorin, iodium, besi, magnesium, mangan, molibdenum, fosfor, kalium, selenium dan seng

Lakukan dengan metode seperti yang tertera pada vitamin larut lemak, air dan mineral tablet.

### Penyimpanan

Disimpan dalam wadah, tertutup rapat dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Jenis sediaan, 3) Indikasi, 4) Waktu kadaluwarsa, 5) Kondisi penyimpanan.

## Vitamin Larut Air, Lemak dan Mineral Tablet

### Definisi

Vitamin larut air, lemak dan mineral dalam sediaan tablet mengandung dua atau lebih vitamin larut lemak yaitu: Vitamin A, vitamin D sebagai ergokalsiferol (vitamin D<sub>2</sub>) atau kolekalsiferol (vitamin D<sub>3</sub>), vitamin E, fitonadion (vitamin K<sub>1</sub>), β-karotin; dan satu atau lebih vitamin yang dapat larut dalam air yaitu: asam askorbat atau setara dengan kalsium askorbat atau natrium askorbat, biotin, sianokobalamin, asam folat, niasin atau niasinamid, asam pantotenik (sebagai kalsium pantotenat atau rasemik kalsium pantotenat), piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin hidroklorida atau tiamin mononitrat; dan satu atau lebih mineral dilengkapi dengan satu atau lebih unsur-unsur berikut dalam ionisasi: kalsium, kromium, tembaga, fluorin, iodium, besi, magnesium, mangan, molibdenum, fosfor, kalium, selenium, dan seng serta dapat mengandung zat lain yang tertera dalam etiket dengan jumlah yang akurat.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang 80,0% dari jumlah yang tertera pada etiket untuk vitamin A (C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O) sebagai retinol atau ester retinol dalam bentuk retinil asetat (C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>) atau retinil palmitat (C<sub>36</sub>H<sub>60</sub>O<sub>2</sub>), vitamin D sebagai kolekalsiferol (C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O) atau ergokalsiferol (C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O), vitamin E sebagai α-tokoferol (C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>) atau α-tokoferil asetat (C<sub>31</sub>H<sub>52</sub>O<sub>3</sub>) atau α-tokoferil suksinat (C<sub>33</sub>H<sub>54</sub>O<sub>5</sub>), fitonadion (C<sub>31</sub>H<sub>46</sub>O<sub>2</sub>), dan β-karotin (C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>) tidak kurang 80,0% dari jumlah yang tertera dalam etiket untuk asam askorbat (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) atau garamnya sebagai kalsium askorbat (C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>CaO<sub>12</sub>·2H<sub>2</sub>O) atau natrium askorbat (C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>NaO<sub>6</sub>), biotin (ClOH<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S), sianokobalamin (C<sub>63</sub>H<sub>88</sub>CoN<sub>14</sub>O<sub>14</sub>P), asam folat (C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub>), niasin (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>2</sub>), atau niasinamid (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O), kalsium pantotenat (C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>CaN<sub>2</sub>O<sub>10</sub>), piridoksin hidroklorida (C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>·HCl), riboflavin (C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>), dan tiamin (C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>CIN<sub>4</sub>OS) sebagai tiamin hidroklorida atau tiamin mononitrat; kalsium (Ca), tembaga (Cu), besi (Fe), magnesium (Mg), mangan (Mn), fosfor (P), kalium (K), dan seng (Zn); kromium (Cr), fluorin (F), iodium (I), molibdenum (Mo), dan selenium (Se).

### Identifikasi

Lakukan dengan cara seperti yang tertera pada penetapan kadar.

**Waktu hancur dan disolusi.** Memenuhi persyaratan untuk uji waktu hancur.

**Keseragaman bobot.** Memenuhi persyaratan uji keseragaman.

### Penetapan kadar

#### Vitamin A (retinol)

Lakukan dengan salah satu metode dibawah beriku:

1. Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan:

**Asam sulfat – metanol 3 M.** Tambah dengan hati-hati 9 ml asam sulfat ke dalam 80 ml metanol dalam labu -100 ml. Dinginkan, dan encerkan dengan metanol sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Natrium askorbat-pirogallol.** Pada 10 g natrium askorbat dan 5 g pirogallol, tambah air sampai larut. Tambah 1,7 ml asam sulfat, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Lesitin.** Larutkan dan encerkan 0,5 g lesitin dengan 2,2,4-trimetilpentan sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Fase gerak.** Campuran n-heksan dan etil asetat (99,7 : 0,3).

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar vitamin A (retinil asetat) dalam 2,2,4-trimetilpentan sampai konsentrasi 15 µg/ml.

**Larutan kesesuaian sistem.** Larutkan sediaan retinil palmitat dalam 2,2,4-trimetilpentan sampai konsentrasi 15 µg/ml. Campur larutan dengan larutan standar sampai masing-masing konsentrasi 7,5 µg retinil asetat/ml dan 7,5 µg retinil palmitat/ml.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 30 µg kolekalkiferol atau ergokalkiferol atau setara dengan 90 mg vitamin E (sebagai α-tokoferol, α-tokoferil asetat, atau α-tokoferil hemisuksinat) atau setara dengan 2,5 mg retinil asetat atau retinil palmitat. Tambah 0,5 g natrium bikarbonat, 1,5 ml lesitin, dan 12,5 ml 2,2,4-trimetilpentan, aduk.. Tambah 6 ml larutan natrium askorbat-pirogallol, aduk, dan biarkan larutan sampai gas keluar. Lanjutkan pengadukan sampai evolusi gas telah berhenti, aduk kembali selama 12 menit. Tambahkan 6 ml dimetilsulfoksida, aduk sampai terbentuk suspensi, dan aduk selama 12 menit. Tambahkan 6 ml larutan asam sulfat-metanol 3 M, campur sampai terbentuk suspensi, dan aduk selama 12 menit. Tambahkan 12,5 ml 2,2,4-trimetilpentan, aduk sampai terbentuk suspensi, dan kocok selama 10 menit. Sentrifus selama 10 menit untuk memecahkan emulsi dan supernatan menjadi jernih. [supernatan untuk penetapan kadar vitamin A, D dan E]. Jika diperlukan, larutkan supernatan dengan 2,2,4-trimetilpentan sampai diperoleh konsentrasi setara dengan larutan standar.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 325-nm.

**Kolom.** Polimer vinil, 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1,5 m per menit.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi, antara retinil asetat dan retinil palmitat tidak kurang dari 8,0; dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 40 µL larutan standar dan larutan uji dan ukur area puncak untuk retinil asetat yang diperoleh dari larutan standar dan area puncak untuk retinil asetat atau retinil palmitat yang diperoleh dari larutan uji. Hitung kadar (mg) dari vitamin A, sebagai retinol dengan rumus :

$$26,5 \text{ ECD} \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

- E = faktor konversi untuk retinil asetat dari vitamin A  
 0,872 = faktor  
 C = konsentrasi vitamin A standar (mg/ml)  
 D = faktor pelarut (ml), digunakan untuk persiapan larutan uji dari supernatan  
 A<sub>S</sub> = area puncak all-trans retinil ester diperoleh dari larutan uji  
 A<sub>Std</sub> = area puncak all-trans retinil ester diperoleh dari standar

2. Lakukan dengan kromatografi cair menggunakan:

**Larutan pengekstrak.** Campur n-heksan dan metilen klorida (3:1).

**Kalium hidroksida.** Larutkan 80 g kalium hidroksida dalam 100 ml air, aduk, dan dinginkan.

**Larutan pengencer.** Larutkan 1 g pirogallol dalam alkohol sampai batas volume volume 100,0 ml dan aduk.

**Fase gerak.** Campuran n-heksan dan isopropil-alkohol (92 : 8). Jika diperlukan lakukan penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan sediaan vitamin A dalam larutan pengencer sampai konsentrasi 30 µg/ml. Larutan disimpan dalam lemari pendingin selama 1 minggu.

**Larutan standar.** Encerkan larutan stok standar dengan larutan pengencer sampai konsentrasi 1 µg/ml vitamin A. Pada 10 ml larutan, tambah 5 ml air, 5 ml larutan pengencer dan 3 ml larutan kalium hidroksida. Aduk selama 15 menit di atas penangas air dengan suhu 60° ± 5°C, dan dinginkan dalam suhu ruang. Tambah 7 ml air dan 25 ml larutan pengekstrak. Aduk selama 60 detik. Bilas labu dengan 60 ml air, biarkan selama 10 menit sampai lapisan terpisah. Larutan standar mengandung 0,34 µg/ml retinol.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 1,5 mg retinil asetat, tambah 5 ml air, 15 ml larutan pengencer dan 3 ml larutan kalium hidroksida. Aduk selama 15 menit di atas penangas air dengan suhu 60° ± 5°C dan dinginkan pada suhu ruang. Tambah 7 ml air dan 25 ml larutan pengekstrak. Aduk selama 60 detik atau lebih. Bilas labu dengan 60 ml air, dan biarkan selama 10 menit sampai lapisan terpisah. [Jangan dikocok, saat emulsi terbentuk]. Encerkan sebagian lapisan organik dengan larutan pengekstrak sampai konsentrasi 0,34 µg/ml (retinol).

**Kolom.** Silika gel, 5 µm, ukuran 8,0 cm x 6,2 mm, atau yang sesuai dengan suhu 40°C.

**Laju alir.** 4 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 335 nm

Injek 50 µl larutan standar dan larutan uji ke dalam kromatograf. Hitung kadar (mg), dari vitamin A, sebagai retinol dengan rumus:

$$0,872 \text{ CD} \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

- 0,872 = faktor konversi untuk retinil asetat, dari standar vitamin A  
 C = konsentrasi vitamin A standar (mg/ml)  
 D = faktor pelarut (ml) digunakan untuk larutan uji  
 A<sub>S</sub> = jumlah area puncak all-trans retinol dan 13-cis retinol yang dari larutan uji  
 A<sub>Std</sub> = area puncak all-trans retinil asetat yang diperoleh dari larutan standar

### Vitamin D (kolekalsiferol atau ergokalsiferol)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campuran n-heksan dan isopropil-alkohol (99 : 1). Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar.** Larutkan standar kolekalsiferol atau ergokalsiferol dalam n-heksan sampai konsentrasi 2 µg/ml.

**Larutan kesesuaian sistem.** Panaskan larutan standar dengan suhu 60° selama 1 jam untuk mendapatkan isomer vitamin D (kolekalsiferol atau ergokalsiferol) sebagai prekursor.

**Larutan uji.** Uapkan 20 ml larutan, yang diperoleh pada penetapan kadar vitamin A (metode 1) sampai konsentrasi 2 µg/ml (kolekalsiferol atau ergokalsiferol).

**Kolom.** Aminopropilsilil 10 µm, ukuran 15 cm x 4,6 mm.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 265 nm.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi antara vitamin D yang terbentuk dan prekursor tidak kurang dari 10; dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 100 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dari kolekalsiferol atau ergokalsiferol dengan rumus:

$$1,09 \text{ CD} \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

- 1,09 = faktor-koreksi untuk menghitung jumlah previtamin D yang ada dalam sediaan  
 C = konsentrasi kolekalsiferol dan ergokalsiferol pada larutan standar (µg/ml)  
 D = faktor pelarut (ml) untuk larutan uji  
 A<sub>S</sub> = area puncak larutan uji

$A_{Std}$  = area puncak larutan standar

2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan :

**Asam sulfat–metanol 3 M.** Tambah dengan hati-hati 9 ml asam sulfat dalam 80 ml metanol. Dinginkan, dan encerkan dengan metanol sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Natrium askorbat-pirogallol.** Pada 10 g natrium askorbat dan 5 g pirogallol, tambah air sampai larut. Tambah 1,7 ml asam sulfat, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Lesitin.** Larutkan dan encerkan 0,5 g lesitin dengan 2,2,4-trimetilpentan sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Fase gerak.** Campur n-heksan dan butanol (98,75 : 1,25). Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem (kromatografi)).

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar kolekalsiferol atau standar ergokalsiferol dalam 2,2,4-trimetilpentan sampai konsentrasi 1 µg/ml.

**Larutan kesesuaian sistem.** Panaskan larutan standar pada suhu 60° selama 1 jam untuk mendapatkan isomer vitamin D (kolekalsiferol atau ergokalsiferol) sebagai prekursor.

**Kolom.** Polimer vinil gel, 5-µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi antara vitamin D yang terbentuk dan prekursor tidak kurang dari 10; dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 100 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dari kolekalsiferol atau ergokalsiferol dengan rumus:

$$26,5 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi kolekalsiferol atau ergokalsiferol larutan standar (µg/ml)

$A_S$  = area puncak larutan uji

$A_{Std}$  = area puncak larutan standar

3. Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan :

**Asam asetat encer.** Encerkan 10 ml asam asetat glasial dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

**Larutan fenolftalein.** Fenolftalein (1 g per 100 ml alkohol).

**Larutan kalium hidroksida-alkohol.** Larutkan 14 g kalium hidroksida dalam campuran 31 ml alkohol anhidrat dan 5 ml air. Larutan harus segar.

**Larutan pengekstrak.** Campuran metilen klorida dan isopropil alkohol (99,8:0,2).

**Fase gerak.** Campur asetonitril dan metanol (91:9). Jika diperlukan, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan kolekalsiferol atau ergokalsiferol dalam alkohol anhidrat sampai konsentrasi 0,2 mg/ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan standar.** [Kondisikan kolom ekstraksi fasa-padat dengan cara bilas kolom dengan 4 ml campuran metilen klorida dan isopropil alkohol (80:20), kemudian dengan 5 ml larutan pengekstrak. Jangan biarkan kolom kering]. Encerkan larutan stok standar dengan alkohol anhidrat sampai konsentrasi 5 µg/ml. Pada 2 ml larutan, tambah 15 ml air dan 15 ml larutan kalium hidroksida-alkohol, sumbat, aduk selama 30 menit dalam penangas air 60°C. Dinginkan pada suhu ruang dan pindahkan ke dalam labu pisah-250 ml. Tambah 15 ml air, aduk dan pindahkan larutan ke dalam labu pisah kedua, tambah 60 ml n-heksan dan aduk selama 15 menit. Buang lapisan air. Pada fase heksan, tambah 1 tetes fenolftalein, 15 ml air, dan asam asetat encer perlahan-lahan sampai netral. Biarkan selama 10 menit sampai lapisan terpisah dan buang lapisan air. Saring fase heksan dengan natrium sulfat anhidrat ke dalam botol 100 ml. Bilas penyaring dengan n-heksan dan campur hasil bilasan dalam botol yang sama. Uapkan fase heksan dengan rotavapor pada suhu 50°C sampai kering. Larutkan residu dengan 2 ml larutan pengekstrak dan alirkan ke dalam kolom silika ekstraksi fasa-padat (*solid phase extraction silica*). Elusi kolom dengan 10 ml larutan pengekstrak dan buang 1 ml eluat pertama, kemudian tampung eluat berikutnya. Hangatkan di atas penangas air pada suhu 42°C dan uapkan dengan aliran nitrogen. Larutkan residu dengan 2 ml asetonitril.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 10 µg kolekalsiferol atau ergokalsiferol, lakukan dengan cara yang sama seperti larutan standar, dimulai dengan "...tambah 15 ml air dan 15 ml larutan kalium hidroksida-alkohol .....".

**Kolom.** Oktadesilsilil 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 27°C.

**Laju alir.** 0,7 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 265 nm.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi antara vitamin D yang terbentuk dan prekursor tidak kurang dari 10. dan simpangan baku relatif untuk tidak lebih dari 4%.

Injek 15 µl larutan standar dan larutan uji. Hitung kadar (µg) dari kolekalsiferol atau ergokalsiferol dengan rumus:

$$1,09 (2C) \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

1,09 = faktor-koreksi untuk menghitung jumlah previtamin D

C = konsentrasi larutan standar (µg/ml)

$A_S$  = area puncak larutan uji

$A_{Std}$  = area puncak larutan standar



**Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol,  $\alpha$ -tokoferil asetat, atau  $\alpha$ -tokoferil suksinat)**

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut :

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan :

**Fase gerak.** Encerkan 10 ml asam fosfat dengan air sampai batas volume 1000 ml (larutan A). Campur metanol dan larutan A (95:5). Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar.** Larutkan sediaan  $\alpha$ -tokoferol,  $\alpha$ -tokoferil asetat, atau  $\alpha$ -tokoferil suksinat dalam metanol sampai konsentrasi 2 mg/ml.

**Larutan kesesuaian sistem.** Larutkan standar ergokalsiferol dalam metanol sampai konsentrasi 0,65 mg/ml. Pindahkan 1 ml larutan ke dalam labu yang mengandung 100 mg  $\alpha$ -tokoferil asetat. Larutkan dengan 30 ml metanol dan aduk. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan uji.** Uapkan 20 ml larutan (yang diperoleh pada penetapan vitamin A, metode 1) pada suhu ruang dengan vakum sampai kering. Larutkan dan encerkan residu dengan metanol sampai konsentrasi 2 mg/ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5  $\mu$ m, ukuran 10 cm x 8 mm.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Kesesuaian sistem.** Waktu tambat relatif 0,5 untuk ergokalsiferol dan 1,0 untuk  $\alpha$ -tokoferil asetat; resolusi antara ergokalsiferol dan  $\alpha$ -tokoferil asetat tidak kurang dari 12; dan faktor tailing antara 0,8 sampai 1,2. Simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 100  $\mu$ l larutan standar dan larutan uji. Hitung kadar ( $\mu$ g) dengan rumus:

$$CD \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

- C = konsentrasi standar (mg/ml)  
 D = faktor pelarut (ml) untuk larutan uji  
 A<sub>S</sub> = area puncak larutan uji  
 A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campur 240 ml metanol, 10 ml air, 0,5 ml asam fosfat 50%, encerkan dengan asetonitril sampai batas volume 1000 ml, aduk dan saring. Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan kesesuaian sistem.** Larutkan dan encerkan sediaan  $\alpha$ -tokoferol,  $\alpha$ -tokoferil asetat, dan  $\alpha$ -tokoferil suksinat dalam metanol sampai konsentrasi 2 mg/ml.

**Larutan standar.** Larutan dan encerkan standar  $\alpha$ -tokoferol,  $\alpha$ -tokoferil asetat, atau  $\alpha$ -tokoferil suk-

sinat dalam metanol sampai konsentrasi 2 mg/ml.

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam penetapan vitamin A, metoda 2. Pindahkan supernatan 2,2,4-trimetilpentan ke dalam labu sampai konsentrasi setara dengan larutan standar. Uapkan sampai kering, tambah metanol, dan uapkan sisa 2,2,4-trimetilpentan. Encerkan dengan metanol dan aduk.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5  $\mu$ m, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

**Kesesuaian sistem.** Waktu tambat relatif 0,6 untuk  $\alpha$ -tokoferil suksinat, 0,8 untuk  $\alpha$ -tokoferol, dan 1,0 untuk  $\alpha$ -tokoferil asetat, berturut-turut; resolusi antara  $\alpha$ -tokoferil suksinat dan  $\alpha$ -tokoferol tidak kurang dari 4,0; dan resolusi antara  $\alpha$ -tokoferol serta  $\alpha$ -tokoferil asetat tidak kurang dari 3,0. Simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 25  $\mu$ l larutan standar dan larutan uji. Hitung kadar ( $\mu$ g) dengan rumus :

$$26,5 CD \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

- C = konsentrasi standar (mg/ml)  
 D = faktor pelarut sebagai pengganti pelarut 2,2,4-trimetilpentan menjadi metanol  
 A<sub>S</sub> = area puncak larutan uji  
 A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

[Ekstraksi awal pada 26,5 ml 2,2,4-trimetilpentan telah dibukukan dalam rumus] Hitung  $\alpha$ -tokoferol setara dengan  $\alpha$ -tokoferil asetat atau  $\alpha$ -tokoferil suksinat dengan cara mengalikan jumlah (mg), oleh faktor 0,91 atau 0,81.

3. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan :

**Pelarut.** Campuran asetonitril dan etil asetat (1:1).

**Fase gerak.** Campuran metanol, asetonitril, dan n-heksan (46,5:46,5:7,0). Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar.** Larutan dan encerkan standar  $\alpha$ -tokoferol,  $\alpha$ -tokoferil asetat, atau  $\alpha$ -tokoferil suksinat dalam metanol sampai konsentrasi 0,3 mg/ml.

**Larutan uji.** Sediaan setara dengan 8 mg  $\alpha$ -tokoferol, ke dalam labu-125 ml. Tambah 25 ml air, 25 ml alkohol dehidrat dan 3,5 g kalium hidroksida. Aduk selama 1 jam dalam penangas air 55°C, dinginkan, dan pindahkan dengan bantuan 50 ml n-heksan ke dalam labu pisah-125 ml dan kocok selama 60 detik sampai lapisan terpisah. Pindahkan lapisan air ke dalam labu pisah-250 ml kedua, dan ulangi ekstraksi dengan 50 ml n-heksan. Buang lapisan air dan gabungkan ekstrak heksan. Bilas ekstraksi dengan 25 ml air sampai lapisan terpisah, dan buang lapisan air. Tambah 3 tetes asam asetat

glasial dan ulangi prosedur pembilasan sebanyak 2 kali. Saring hasil bilasan lapisan heksan dengan natrium sulfat anhidrat ke dalam botol-250 ml. Bilas corong dan natrium sulfat dengan n-heksan dan tambah hasil bilasan ke dalam larutan heksan dalam botol. Uapkan larutan heksan dalam penangas air pada suhu 50°C sampai kering. Segera tambah 25,0 ml pelarut dan aduk sampai residu larut.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai, suhu 40°C.

**Laju alir.** 3 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 291 nm.

**Simpangan baku relatif.** Tidak lebih dari 5%.

Injek 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus:

$$25 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi standar (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

#### Vitamin K<sub>1</sub> (fitonadion)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut :

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campuran metanol dan air (95:5). Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan sediaan dalam metanol sampai konsentrasi 200 µg/ml (fitomenadion), jika perlu dengan bantuan sonikasi.

**Larutan standar.** Encerkan 10 ml larutan stok standar dengan metanol sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Larutan kesesuaian sistem.** Larutkan 65 mg α-tokoferil asetat dengan 75 ml metanol, tambah 10 ml larutan stok standar, encerkan dengan metanol sampai batas volume 100 ml.

**Larutan uji.** Uapkan 20 ml larutan (yang diperoleh pada penetapan vitamin A) metode 1, pada suhu ruang dengan vakum sampai mendekati kering. Larutkan dan encerkan residu dengan metanol sampai konsentrasi fitomenadion 20 µg/ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5 µm, ukuran 10 cm x 8 mm.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

**Kesesuaian sistem.** Resolusi antara α-tokoferil asetat dan fitonadion tidak kurang dari 5. Waktu retensi relatif 0,68 untuk α-tokoferil asetat dan 1,0 untuk fitonadion dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 100 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus :

$$C (LD) \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi standar sediaan (µg/ml)

L = jumlah fitomenadion pada sediaan (µg)

D = konsentrasi fitomennadion dalam larutan uji (µg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pelarut.** Campur metanol dan isopropanol (95:5).

**Fase gerak.** Campuran 800 ml metanol, 200 ml metilen klorida, 0,1 ml asam asetat glasial, 1,36 g seng klorida, dan 0,41 g natrium asetat.

**Larutan standar internal.** Larutan menakuinon 4 (vitamin K<sub>2</sub>) dalam pelarut sampai konsentrasi 5 µg/ml. [Stok larutan menakuinon 4 (100 µg/ml) dapat disimpan selama 2 bulan dalam lemari pendingin.]

**Larutan stok standar.** Larutkan sediaan fitonadion dalam metilen klorida dengan bantuan sonikasi. Encerkan dengan pelarut sampai konsentrasi 5 µg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan 1 ml larutan stok standar dan 1 ml larutan standar internal dengan pelarut sampai volume 5,0 ml dan aduk. Saring dengan membran 0,45 µm atau yang sesuai.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 50 µg fitonadion, tambah 4 ml air, sumbat, dan aduk. Tempatkan tabung dalam penangas air pada suhu 60°C selama 5 menit. Buang rendaman dan aduk selama 1 menit biarkan larutan tetap panas. Tambah 8 ml alkohol dan aduk. Tempatkan tabung dalam penangas air pada suhu 60°C selama 5 menit. Buang rendaman, dan aduk selama 2 menit biarkan larutan tetap panas. Dinginkan pada suhu ruang. Encerkan dengan larutan standar internal setara dengan 5 µg/ml fitonadion. Tambah 20 ml petroleum benzin dan sumbat. Aduk selama 15 menit. Sentrifus untuk memisahkan kedua lapisan. Pindahkan lapisan atas dari petroleum benzin setara dengan 5—50 µg fitonadion ke dalam labu. Uapkan tabung dalam penangas air pada suhu 35°—45°C dengan aliran nitrogen sampai lemak residu hilang. Larutkan residu dalam pelarut sampai konsentrasi 1 µg/ml fitomenadion.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5 µm, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Paska kolom.** Serbuk seng, ukuran 3 cm x 4,6 mm atau yang sesuai. [Siapkan reaktor pasca kolom jika diperlukan atur kesesuaian sistem].

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Fluorometer pada panjang Ex. 320 nm untuk Em. 420 nm.

**Kesesuaian sistem.** Waktu tambat relatif 1,0 untuk standar internal dan 1,4 untuk fitonadion; efisiensi kolom untuk puncak fitonadion tidak kurang dari 2500 plat teoritis; faktor tailing untuk puncak fitonadion tidak lebih dari 1,5; dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 25 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus :

$$SCD \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi standar (µg/ml)

D = volume larutan standar internal yang digunakan untuk larutan uji (ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>std</sub> = area puncak larutan standar

### β-Karoten

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan kalium hidroksida.** Larutkan dan encerkan 58,8 g kalium hidroksida dalam air sampai batas volume 50 ml.

**Larutan iodium.** Larutkan 10 mg iodium dengan sikloheksan dan aduk. Encerkan 10 ml larutan dengan sikloheksan sampai batas volume 100 ml dan aduk. Larutan harus segar.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 2 mg β-karoten, tambah 100 ml alkohol, 6 ml larutan kalium hidroksida dan aduk. Panaskan dengan refluks kondensator selama 45 menit. Dinginkan pada suhu ruang, tambah 170 ml larutan heksan dan aduk selama 30 menit. Biarkan selama 5—10 menit. Pindahkan lapisan organik ke dalam labu 500 ml. Pada lapisan air, tambah 170 ml heksan dan aduk selama 20 menit. Biarkan selama 10 menit. Buang lapisan air dan campur lapisan organik. Pada fase organik, tambah 3 g natrium sulfat anhidrat dan aduk. Pindahkan larutan setara dengan 100 µg β-karoten ke dalam labu -50 ml. Uapkan dengan aliran nitrogen sampai kering dan segera tambah sikloheksan. Tambah 2 ml larutan iodium dan panaskan selama 15 menit dalam penangas air pada suhu 65°C. Dinginkan dan encerkan dengan sikloheksan, aduk.

Ukur serapan pada panjang gelombang maksimum 452 nm, gunakan sikloheksan sebagai blanko. Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$LD \left( \frac{A_s}{223} \right)$$

Keterangan :

L = jumlah β-karoten pada sediaan (mg)

D = konsentrasi β-karoten pada larutan uji (mg/ml)

A<sub>s</sub> = serapan larutan uji

223 = serapan β-karoten pada panjang gelombang 452 nm

### Asam askorbat, kalsium askorbat dan natrium askorbat

Pada sediaan setara dengan 100 mg asam askorbat, tambah 75 ml asam metafosfat asetat. Sumbat dan aduk selama 30 menit. Encerkan dengan air dan aduk. Sentrifus sampai supernatan. Pada 4 ml larutan, tambah 5 ml asam metafosfat-asetat dan titrasi dengan larutan standar diklorofenol-indofenol sampai warna merah muda tetap selama 5 detik. Standarisasi larutan diklorofenol-indofenol dengan campuran 5,5 ml asam metafosfat-asetat dan 15 ml air.

### Vitamin H (biotin)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut :

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan :

**Larutan uji.** Larutkan sediaan setara dengan 1 mg biotin dalam 3 ml dimetil sulfoksid, hangatkan di atas penagas air pada suhu 60°—70°C selama 5 menit. Sonikasi selama 5 menit dan encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml,

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 67 mg standar biotin dalam dimetilsulfoksid sampai batas volume 200 ml. Encerkan larutan dengan air sampai konsentrasi 5 µg/ml.

**Kolom.** Oktilsilil, 3-µm ukuran 15 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Campur 85 ml asetonitril, 1 g natrium perklorat, dan 1 ml asam fosfat, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml, aduk, saring. Jika perlu buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Laju alir.** 1,2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 200 nm.

**Sistem kromatografik.** Simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 100 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus :

$$200 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi biotin pada larutan standar (µg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>std</sub> = area puncak larutan standar

2. Lakukan dengan metode mikrobiologi, menggunakan:

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan standar biotin dalam alkohol 50% sampai konsentrasi 50 µg/ml dan aduk. Simpan larutan dalam lemari pendingin.

**Larutan standar.** Encerkan larutan stok standar dengan air sampai konsentrasi 0,1 ng/ml.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 100 µg biotin, tambah 3 ml alkohol 50%, dan aduk. Panaskan dalam penangas air pada suhu 60°–70°C selama 5 menit. Sonikasi selama 5 menit, encerkan dengan alkohol 50% sampai batas volume 200 ml dan saring. Encerkan larutan dengan air sampai konsentrasi 0,1 mg/ml.

**Larutan asam-kasein hidrolisat.** Campurkan 100 g vitamin bebas kasein dengan 500 ml asam hidroklorida 6M dan refluks selama 8–12 jam. Suling dengan pengurangan tekanan (untuk menghilangkan asam hidroklorida) sampai terbentuk pasta. Larutkan pasta dalam air, atur pH  $3,5 \pm 0,1$  dengan natrium hidroksida 1M dan tambah air sampai batas volume 1000 ml. Tambah 20 g arang aktif, aduk selama 1 jam dan saring ke dalam botol. Ulangi proses dengan arang aktif. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak lebih dari 10°C.

**Larutan sistin-triptofan.** Suspensikan 4,0 g L-sistin dalam 1,0 g L-triptofan (atau 2,0 g D,L-triptofan) dalam 700 ml air, panaskan pada suhu 70°–80°C, dan tambah secara perlahan larutan asam hidroklorida (1 dalam 2), aduk. Dinginkan dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak lebih dari 10°C.

**Larutan urasil-guanin-adenin.** Larutkan 200 mg adenin sulfat, guanin hidroklorida, dan urasil dalam 10 ml asam hidroklorida 4M sambil dipanaskan, dinginkan, dan tambah air sampai batas volume 200 ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan polisorbate 80.** Larutkan dan encerkan 25 g polisorbate 80 dalam alkohol sampai batas volume 250 ml.

**Larutan kalsium pantotenat.** Larutan kalsium pantotenat dalam alkohol 50% yang mengandung 10 µg/ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan riboflavin-tiamin hidroklorida.** Larutan riboflavin dan tiamin hidroklorida dalam asam asetat 0,02 M yang mengandung 20 µg/ml riboflavin dan 10 µg/ml tiamin hidroklorida. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak lebih 10°C.

**Larutan asam p-aminobenzoat-niasin-piridoksin hidroklorida.** Campuran air dan alkohol netral (3:1) yang mengandung 10 µg/ml asam p-aminobenzoat, 50 µg/ml niasin dan 40 µg/ml piridoksin hidroklorida. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan garam 1.** Larutkan dan encerkan 25 g kalium fosfat dan 25 g dikalium fosfat dalam air sampai batas volume 500 ml. Tambah 5 tetes asam hidroklorida dan aduk. Simpan botol dalam toluen.

**Larutan garam 2.** Larutkan dan encerkan 10 g magnesium sulfat, 0,5 g natrium klorida, 0,5 g besi sulfat dan 0,5 g mangan sulfat dalam air sampai batas volume 500 ml. Tambah 5 tetes asam hidroklorida dan aduk. Simpan botol dalam toluen.

**Larutan basal stok medium.** Campur 25 ml larutan asam-kasein hidrolisat, 25 ml larutan sistin-triptofan, 0,25 ml larutan polisorbate 80, 10

g dekstrosa anhidrat, 5 g natrium asetat anhidrat, 5 ml larutan urasil-guanin-adenin, 5 ml larutan kalsium pantotenat, 5 ml larutan riboflavin-tiamin hidroklorida, 5 ml larutan asam p-aminobenzoat-niasin-piridoksin hidroklorida, 5 ml larutan garam (1), 5 ml larutan garam (2), atur pH  $6,8 \pm 0,1$  dengan natrium hidroksida 1M dan encerkan dengan air sampai batas volume 250 ml.

**Stok kultur *Lactobacillus plantarum*.** Larutkan 2 g sari ragi dalam 100 ml air, tambah 500 mg dekstrosa anhidrat, 500 mg natrium asetat anhidrat dan 1,5 g agar. Panaskan campuran di atas penangas air dengan pengadukan sampai agar larut. Pindahkan 10 ml larutan panas pada tabung uji, sumbat, sterilkan pada otoklaf 121°C selama 15 menit dan biarkan tabung sampai dingin dalam posisi tegak lurus. Siapkan kultur pada tiga atau lebih tabung, gunakan kultur murni *Lactobacillus plantarum*, inkubasi selama 16–24 jam pada suhu 30°–37°C dan tetap pada suhu  $\pm 0,5^\circ\text{C}$ . Simpan dalam lemari pendingin. Siapkan stok kultur segar setiap minggunya dan jangan gunakan untuk inokulum jika kultur lebih dari 1 minggu.

**Medium kultur.** Setiap tabung uji mengandung 5 ml larutan basal stok medium, tambah 5 ml air yang mengandung 0,5 mg biotin. Sumbat dengan katun, sterilkan pada otoklaf 121°C selama 15 menit dan dinginkan.

**Inokulum.** [Suspensi beku *Lactobacillus plantarum* dapat digunakan sebagai stok kultur untuk menghasilkan inokulum yang sebanding dengan kultur segar]. Pindahkan secukupnya dari stok kultur *Lactobacillus plantarum* ke dalam tabung steril yang mengandung 10 ml medium kultur. Inkubasi pada suhu 30°–37°C selama 16–24 jam.

**Prosedur.** Siapkan enam tabung, tambah larutan standar ke setiap tabung yang berbeda masing-masing 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0 dan 5,0 ml. Pada setiap tabung dan empat tabung kosong lain, tambah 5 ml larutan basal stok medium dan air sampai volume 10 ml. Pada empat tabung yang kosong, tambahkan larutan uji 2–3 kali larutan standar termasuk 2,0; 3,0; dan 4,0 ml. Pada setiap tabung, tambah 5 ml larutan basal stok medium dan air sampai volume 10 ml. Sumbat semua tabung, sterilkan pada otoklaf 121°C selama 5 menit. Dinginkan, tambah 1 tetes inokulum pada setiap tabung, kecuali dua dari empat tabung tidak mengandung larutan standar (blanko) dan aduk. Inkubasi pada suhu 30°–37°C selama 16–24 jam inkubasi. Dalam 2 jam pertama tidak terjadi kekeruhan dalam tabung yang mengandung standar dengan konsentrasi paling tinggi.

Ukur %T masing-masing tabung dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540–660 nm.

**Perhitungan.** Lakukan perhitungan dengan bantuan kurva konsentrasi-respon (%T) atau dengan bantuan program yang tersedia pada peralatan.

3. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Dapar.** Pada 800 ml air dan 100 ml tritilamin, tambah 80 ml asam fosfat 85%, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml dan aduk.

**Fase gerak.** Pada 80 ml asetonitril dan 10 ml dapar, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml, aduk dan saring. Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 25 mg standar biotin dengan air sampai batas volume 250 ml dan aduk. Pada 1,5 ml larutan, encerkan dengan air sampai konsentrasi 0,6 µg/ml biotin. [Gunakan sebagian larutan standar untuk penentuan angka temuan kembali pada prosedur ekstraksi fasa-padat (*solid phase extraction*)].

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan setara dengan 60 µg biotin dengan air (jika perlu sonikasi selama 30—40 menit) sampai batas volume 100 ml dan saring. Atur pH 6,0—7,0 dengan asam asetat atau natrium hidroksida 0,1 M.

**Ekstraksi fasa-padat (*solid-phase extraction*).** [Sebelum digunakan, bilas kolom dengan 2 ml metanol. Ekuilibrasikan dengan 2 ml air]: Pipet masing-masing 5 ml larutan uji dan larutan standar ke dalam kolom ekstraksi fasa-padat yang berbeda (mengandung penukar ion dan fase terbalik kopolimer N-vinilpirolidon dan divinilbenzen). Bilas kolom dengan 10 ml metanol (30% v/v). Alirkan sekita 4,9 ml pada metanol (30% v/v dalam asam hidroklorida 0,1 M) ke dalam kolom. Campur eluat ke dalam labu ukur-5 ml, yang mengandung 100 µl natrium asetat (40% v/v) dan encerkan dengan metanol (30% v/v dalam asam hidroklorida 0,1 M) sampai volume 5,0 ml.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 atau yang sesuai.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 200 nm.

**Kesesuaian sistem.** Faktor tailing tidak lebih dari 1,5; dan simpangan baku relatif tidak lebih dari 2%.

Injek 100 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus :

$$100 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi biotin dalam larutan standar (µg/ml)

A<sub>S</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

### Vitamin B<sub>12</sub> (sianokobalamin)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campuran air dan metanol (65 : 35).

Jika diperlukan buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar.** Larutkan standar sianokobalamin dalam air sampai konsentrasi 10 µg/ml. Encerkan stok larutan dengan air sampai konsentrasi 1 µg/ml.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan setara 100 µg sianokobalamin dengan air sampai batas volume 250 ml. Saring dan gunakan hasil saringan.

**Kolom.** Oktadesilsilil 5 µm, ukuran 15 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 0,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm.

**Kesesuaian sistem.** Simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 200 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus :

$$100 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi sianokobalamin dalam larutan standar (µg/ml)

A<sub>S</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

2. Lakukan dengan metode mikrobiologi, menggunakan:

**Larutan stok standar sianokobalamin.** Larutkan standar sianokobalamin dalam alkohol 25% sampai konsentrasi 1 µg/ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan standar.** Encerkan larutan stok standar sianokobalamin dengan air sampai konsentrasi 0,01 dan 0,04 ng/ml. Larutan harus segar.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 1,0 µg sianokobalamin, tambah 25 ml larutan pengekstrak (yang mengandung 1,29 g natrium fosfat dibasa, 1,1 g asam sitrat anhidrat dan 1 g natrium metabisulfit dalam 100 ml), otoklaf pada suhu 121°C selama 10 menit. Saring atau sentrifus jika diperlukan. Encerkan hasil saringan atau supernatan dengan air sampai konsentrasi antara 0,01 dan 0,04 ng/ml.

**Larutan asam kasein-hidrolisat.** Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar kalsium pantotenat, metode 2.

**Larutan asparagin.** Larutkan dan encerkan 2,0 g L-asparagin dalam air sampai batas volume 200 ml. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan adenin-guanin-urasil.** Lakukan seperti yang tertera pada penetapan kadar kalsium pantotenat, metode 2.

**Larutan xantin.** Larutkan 0,2 g xantin dalam sekitar 30 ml air, panaskan pada suhu 70°C, tambah 6 ml amonium hidroksida 6M dan aduk sampai larut. Dinginkan dan tambah air sampai batas

volume 200 ml. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan garam 1.** Larutkan dan encerkan 10 g kalium fosfat monobasa dan 10 g kalium fosfat dibasa dalam air sampai batas volume 200 ml dan tambah 2 tetes asam hidroklorida. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan garam 2.** Larutkan 4 g magnesium sulfat, 0,2 g natrium klorida, 0,2 g besi sulfat dan 0,2 g mangan sulfat dalam air sampai batas volume 200 ml dan tambah 2 tetes asam hidroklorida. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan polisorbitat 80.** Larutkan dan encerkan 20 g polisorbitat 80 dalam alkohol sampai batas volume 200 ml. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan vitamin 1.** Larutkan dan encerkan 10 mg riboflavin, 10 mg tiamin hidroklorida, 100 µg biotin dan 20 mg niasin dalam asam asetat glasial 0,02 M sampai volume 400 ml. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan vitamin 2.** Larutkan dan encerkan 20 mg asam p-aminobenzoat, 10 mg kalsium pantotenat, 40 mg piridoksin hidroklorida, 40 mg piridoksal hidroklorida, 8 mg piridoksamin dihidroklorida dan 2 mg asam folat dalam campuran air dan alkohol netral (3 : 1) sampai volume 400 ml. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Larutan basal stok medium.** Larutkan bahan-bahan di bawah ini dalam asam hidroklorida secukupnya sampai larut. Tambah 100 ml air, aduk dan larutkan dekstrosa, natrium asetat dan asam askorbat. Saring, jika diperlukan, tambah larutan polisorbitat 80. Atur pH 5,5–6,0 dengan natrium hidroksida 1 M dan tambah air murni sampai batas volume 250 ml.

**Komposisi medium.** Campur 0,1 g L-sistin, 0,05 g L-triptofan, 10 ml asam hidroklorida 1 M, 5 ml larutan adenine-guanin-urasil, 5 ml larutan xantin, 10 ml larutan vitamin 1, 10 ml larutan vitamin 2, 5 ml larutan garam (1), 5 ml larutan garam (2), 5 ml larutan asparagin, 25 ml larutan asam kasein-hidrolisat, 10 g dekstrosa anhidrat, 5 g natrium asetat anhidrat, 1 g asam askorbat dan 5 ml larutan polisorbitat 80.

**Jus tomat.** Sentrifus jus tomat yang dijual secara komersial sampai kotoran hilang. Saring sampai diperoleh sampai diperoleh hasil saringan berwarna kekuning-kuningan. Simpan botol dalam toluen pada lemari pendingin.

**Medium kultur.** Larutkan 0,75 g sari ragi, 0,75 g pepton, 1 g dekstrosa anhidrat dan 0,2 g kalium fosfat monobasa dalam sekitar 60 ml air. Tambah 10 ml jus tomat dan 1 ml larutan polisorbitat 80. Atur pH 6,8 dengan natrium hidroksida 1 M dan tambah air sampai batas volume 100 ml. Pindahkan 10 ml larutan dalam tabung uji dan sumbat dengan katun. Sterilkan pada otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan dengan cepat untuk menghindari

perubahan warna yang dihasilkan dari medium yang terlalu panas.

**Suspensi medium.** Encerkan larutan basal stok medium dengan air dengan volume yang sama. Pindahkan 10 ml medium ke dalam tabung uji. Sterilkan pada otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan dengan cepat untuk menghindari perubahan warna yang dihasilkan dari medium yang terlalu panas.

**Stokkultur *Lactobacillus leichmannii*.** Inokulasikan *Lactobacillus leichmannii* ke dalam 10 ml medium kultur yang steril (mengandung 1–1,5 g agar/100 ml). Inkubasi pada suhu 30°–40°C selama 16–24 jam. Simpan dalam lemari pendingin. Gunakan stok kultur yang segar untuk penetapan kadar.

**Inokulum.** [Suspensi beku *Lactobacillus leichmannii* atau *Lactobacillus plantarum* dapat digunakan sebagai stok kultur untuk menghasilkan inokulum yang sebanding dengan kultur segar]. Pindahkan secukupnya dari stok kultur *Lactobacillus leichmannii* ke dalam tabung steril yang mengandung 10 ml medium kultur. Inkubasi pada suhu 30°–40°C selama 16–24 jam. Suspensikan biakan dalam 5 ml suspensi medium steril dan campur. Atur volume dengan garam fisiologis sehingga campuran 1 berbanding 20 mempunyai nilai %T = 70% pada panjang gelombang 530 nm, larutan garam fisiologis sebagai blanko. Encerkan larutan sampai 1 berbanding 400 menggunakan larutan stok basal medium.

**Prosedur.** Pada tabung terpisah, tambah masing-masing 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0; dan 5,0 ml larutan standar. Pada setiap tabung tersebut dan empat tabung lain, tambah 5,0 ml larutan stok basal medium dan air sampai volume 10 ml. Pada tabung yang terpisah, tambah 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 dan 4,0 ml larutan uji. Pada setiap tabung tersebut dan empat tabung lain, tambah 5,0 ml larutan stok basal medium dan air sampai volume 10 ml. Sterilkan tabung dengan otoklaf pada suhu 121°C selama 5 menit. Tambah 0,5 ml inokulum pada setiap tabung yang telah disiapkan, kecuali dua tabung untuk blanko. Inkubasi pada suhu 30°–40°C selama 16–24 jam. Panaskan tabung pada suhu 80°C selama 5 menit. Dinginkan pada suhu ruang.

Ukur %T dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm selama 30 detik.

**Perhitungan.** Lakukan perhitungan dengan bantuan kurva konsentrasi-respon (%T) atau dengan bantuan program yang tersedia pada peralatan.

#### Asam folat

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut :

1. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pereaksi (1).** Larutan tetrabutylamonium hidroksida 25% dalam metanol.

**Pereaksi (2).** Larutkan dan encerkan 5 g asam pentetat dalam natrium hidroksida 1 M sampai batas volume 50 ml.

**Fase gerak.** Larutkan 2 g kalium fosfat monobasa dalam 650 ml air. Tambah 12 ml pereaksi (1), 7 ml asam fosfat 3 M dan 240 ml metanol. Dinginkan pada suhu ruang, atur pH 7,15 dengan asam fosfat dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml, aduk dan saring. [Periksa kembali pH sebelum digunakan, jika diperlukan buat penyesuaian kandungan metanol dan air (1%—3%) pada fase gerak untuk memperoleh pemisahan dan garis dasar asam folat dan standar internal yang baik].

**Larutan standar internal.** Pada 40 mg metilparaben tambah 220 ml metanol aduk sampai larut. Larutkan 2 g kalium fosfat monobasa dalam 300 ml air. Campurkan kedalam larutan yang bersi metilparaben, tambah 300 ml air dan aduk. Tambah 19 ml pereaksi (1), 7 ml asam fosfat 3 M dan 30 ml pereaksi (2). Atur pH 9,8 dengan amonia. Alirkan nitrogen kedalam larutan selama 30 menit, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml dan aduk.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar asam folat dalam larutan standar internal sampai konsentrasi 0,2 mg/ml. Encerkan 2 ml dengan larutan standar internal sampai volume 25 ml dan aduk.

**Larutan uji.** Larutkan dan encerkan sediaan setara dengan 0,4 mg asam folat dalam 25 ml larutan standar internal, aduk selama 10 menit, dan sentrifus. Saring supernatan dan gunakan hasil saringan untuk penetapan

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 30 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

Injek larutan standar, waktu tambat relatif sekitar 0,8 untuk asam folat dan 1,0 untuk metilparaben; simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 15 µl larutan standar, larutan standar internal dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus :

$$25 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi asam folat larutan standar, (mg/ml)

A<sub>S</sub> dan A<sub>Std</sub> = perbandingan area asam folat terhadap metilparaben pada larutan uji dan larutan standar

- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Pereaksi.** Larutkan 7,5 g dinatrium edetat dalam 500 ml air (yang mengandung 10 ml amonium hidroksida).

**Pelarut pengencer.** Amonium hidroksida (60 µg/ml).

**Fase gerak.** Encerkan 0,4 ml tritilamin, 15 ml asam asetat glasial dan 350 ml metanol dengan natrium 1-heksansulfonat 0,008 M sampai batas volume 2000 ml dan saring. Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan standar asam folat ke dalam pelarut pengencer sampai konsentrasi 60 µg/ml. Larutan harus segar.

**Larutan standar.** Pada 5 ml larutan stok standar, tambah 10 ml metanol dan 35 ml pereaksi. Aduk selama 15 menit di dalam penangas air pada suhu 60°C, dinginkan. Saring (buang beberapa ml hasil saringan pertama) dan gunakan hasil saringan.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 0,3 mg asam folat, tambah 10 ml metanol dan 35 ml pereaksi. Aduk selama 15 menit didalam penangas air pada suhu 60°C, dinginkan. Saring (buang beberapa ml hasil saringan pertama), gunakan hasil saringan.

**Kolom.** Oktilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm, suhu 59°C.

**Kecepatan alir.** 2 ml/menit

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 270 nm.

Injek larutan standar, Simpangan baku tidak lebih dari 2,0%.

Injek 5 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus :

$$45 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi asam folat dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>S</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

### Kalsium pantotenat

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Campur air dan asam fosfat (1000 : 1). Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar internal.** Larutkan 80 mg asam p-hidroksibenzoat dalam 3 ml alkohol. Tambah 50 ml air dan 7,1 g natrium fosfat dibasa. Encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml dan aduk. Atur pH 6,7, dengan asam fosfat.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan standar kalsium pantotenat dengan larutan standar internal sampai konsentrasi 0,6 mg/ml.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 15 mg kalsium pantotenat, tambah 25 ml larutan standar

internal, aduk selama 10 menit. Sentrifus dan saring. Gunakan hasil saringan.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 3,9 mm.

**Laju alir.** 1,5 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 210 nm.

Injek larutan standar, waktu tambat relatif adalah 0,5 untuk kalsium pantotenat dan 1,0 untuk asam p-hidroksibenzoat; simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek larutan standar, Simpangan baku tidak lebih dari 2,0%.

Injek 10 µl larutan standar, larutan standar internal dan larutan uji.

Hitung kadar (µg) dengan rumus :

$$25 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi kalsium pantotenat dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>s</sub> dan A<sub>Std</sub> = perbandingan area kalsium pantotenat terhadap parahidroksibenzoat pada larutan uji dan larutan standar

- Lakukan dengan metode mikrobiologi, menggunakan:

**Larutan stok standar.** Larutkan 50 mg kalsium pantotenat (sebelumnya dikeringkan dan disimpan dalam tempat gelap diatas fosfor pentoksida) dalam 500 ml air. Tambah 10 ml asam asetat 0,2 M, 100 ml larutan natrium asetat (1 dalam 60), dan encerkan dengan air sampai konsentrasi 50 µg/ml. Simpan botol dalam toluen di lemari pendingin.

**Larutan standar.** Encerkan larutan stok standar dengan air sampai konsentrasi 0,01 – 0,04 µg/ml kalsium pantotenat.

**Larutan uji.** Larutkan sediaan setara 50 mg kalsium pantotenat dalam 500 ml air. Tambah 10 ml asam asetat 0,2 M, 100 ml larutan natrium asetat (1 dalam 60), encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml dan saring. Encerkan larutan sampai konsentrasi setara dengan larutan standar.

**Larutan asam-kasein hidrolisat.** Campurkan 100 g vitamin bebas kasein dengan 500 ml asam hidroklorida 6 M dan reflus selama 8–12 jam. Suling dengan pengurangan tekanan (untuk menghilangkan asam hidroklorida) sampai terbentuk pasta. Larutkan pasta dalam air, atur pH 3,5 ± 0,1 dengan natrium hidroksida 1 M dan tambah air sampai batas volume 1000 ml. Tambah 20 g arang aktif, aduk selama 1 jam dan saring ke dalam botol. Ulangi proses dengan arang aktif. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak lebih dari 10°C.

**Larutan sistin-triptofan.** Suspensikan 4,0 g L-sistin dalam 1,0 g L-triptofan (atau 2,0 g D,L-triptofan) dalam sekitar 700 ml air, panaskan pada suhu 70°–80°C, tambah setetes demi setetes

larutan asam hidroklorida (1 dari 2), dan aduk. Dinginkan dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak lebih dari 10°C.

**Larutan urasil-guanin-adenin.** Larutkan 200 mg adenin sulfat, guanin hidroklorida, dan urasil dalam 10 ml asam hidroklorida 4 M sambil dipanaskan, dinginkan, dan tambah air sampai batas volume 200 ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan polisorb 80.** Larutkan dan encerkan 25 g polisorb 80 dalam alkohol sampai batas volume 250 ml.

**Larutan riboflavin-tiamin hidroklorida-biotin.** Larutan riboflavin dan tiamin hidroklorida dan biotin dalam asam asetat 0,02 M yang mengandung 20 µg/ml riboflavin dan 10 µg/ml tiamin hidroklorida dan 0,04 µg/ml biotin. Simpan botol dalam toluen pada suhu tidak lebih 10°C.

**Larutan asam p-aminobenzoat-niasin-piridoksin hidroklorida.** Campuran air dan alkohol netral (3:1) yang mengandung 10 µg/ml asam p-aminobenzoat, 50 µg/ml niasin dan 40 µg/ml piridoksin hidroklorida. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan garam 1.** Larutkan dan encerkan 25 g kalium fosfat monobasa dan 25 g kalium fosfat dibasa dalam air sampai batas volume 500 ml. Tambah 5 tetes asam hidroklorida dan aduk. Simpan botol dalam toluen.

**Larutan garam 2.** Larutkan dan encerkan 10 g magnesium sulfat, 0,5 g natrium klorida, 0,5 g besi sulfat dan 0,5 g mangan sulfat dalam air sampai batas volume 500 ml. Tambah 5 tetes asam hidroklorida dan aduk. Simpan botol dalam toluen.

**Stok kultur *lactobacillus plantarum*.** Larutkan 2 g sari ragi dalam 100 ml air, tambah 500 mg dekstrosa anhidrat, 500 mg natrium asetat anhidrat dan 1,5 g agar. Panaskan campuran di atas penangas air dengan pengadukan sampai agar larut. Pindahkan 10 ml larutan panas pada tabung uji, sumbat, sterilkan pada otoklaf 121°C selama 15 menit dan biarkan tabung sampai dingin dalam posisi tegak lurus. Siapkan stok kultur pada tiga atau lebih tabung, gunakan kultur murni *lactobacillus plantarum*, inkubasi selama 16–24 jam pada suhu 30°–37°C. Simpan dalam lemari pendingin. Siapkan stok kultur segar setiap minggunya dan jangan gunakan untuk inokulum jika kultur lebih dari 1 minggu.

**Medium kultur.** Setiap tabung uji mengandung 5 ml larutan basal stok medium, tambah 5 ml air yang mengandung 0,5 mg kalsium pantotenat. Sumbat dengan katun, sterilkan dengan otoklaf 121°C dan dinginkan.

**Inokulum.** [Suspensi beku *lactobacillus plantarum* dapat digunakan sebagai stok kultur untuk menghasilkan inokulum yang sebanding dengan kultur segar]. Pindahkan secukupnya dari stok kultur *lactobacillus plantarum* ke dalam tabung steril yang mengandung 10 ml medium kultur.



Inkubasi pada suhu 30°—37°C selama 16—24 jam.

**Larutan stok basal medium.** Campur 25 ml larutan asam kasein hidrolisat, 25 ml larutan sistin-triptofan, 0,25 ml larutan polisorbitat 80, 10 g dekstrosa anhidrat, 5 g natrium asetat anhidrat, 5 ml larutan urasil-guanin-adenin, 5 ml larutan kalsium pantotenat, 5 ml larutan riboflavin-tiamin hidroklorida, 5 ml larutan asam p-aminobenzoat-niasin-piridoksin hidroklorida, 5 ml larutan garam (1), 5 ml larutan garam (2), atur pH  $6,8 \pm 0,1$  dengan natrium hidroksida 1 M dan encerkan dengan air sampai batas volume 250 ml.

**Prosedur.** Siapkan enam tabung, tambah ke setiap tabung yang berbeda 1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0 dan 5,0 ml larutan standar. Pada setiap tabung dan empat tabung kosong lain, tambah 5 ml larutan basal stok medium dan air sampai volume 10 ml.

Pada empat tabung yang kosong, tambahkan larutan uji 2—3 kali larutan standar termasuk 2,0; 3,0; dan 4,0 ml. Pada setiap tabung, tambah 5 ml larutan basal stok medium dan air sampai volume 10 ml.

Sumbat semua tabung, sterilkan pada otoklaf 121°C selama 5 menit. Dinginkan, tambah 1 tetes inokulum pada setiap tabung, kecuali dua dari empat tabung tidak mengandung larutan standar (blanko) dan aduk. Inkubasi pada suhu 30°—37°C selama 16—24 jam inkubasi. Dalam 2 jam pertama tidak terjadi kekeruhan dalam tabung yang mengandung standar dengan konsentrasi paling tinggi.

Ukur %T dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540—660 nm.

**Perhitungan.** Lakukan perhitungan dengan bantuan kurva konsentrasi-respon (%T) atau dengan bantuan program yang tersedia pada peralatan.

- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Dapar fosfat.** Larutkan dan encerkan 10 g kalium fosfat monobasa dalam air sampai batas volume 2000 ml. Atur pH 3,5 dengan sam fosfat.

**Fase gerak.** Campur dapar fosfat dan metanol (90:10). Jika perlu, lakukan penyesuaian jika diperlukan (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutan standar kalsium pantotenat dalam air sampai konsentrasi 0,25 mg/ml. Simpan dalam lemari pendingin.

**Larutan standar.** Encerkan larutan stok standar dengan air sampai konsentrasi 40 µg/ml.

**Larutan uji.** Larutkan sediaan setara 10 mg kalsium pantotenat dengan 50 ml metanol, dan encerkan dengan air sampai batas volume 250 ml dan saring.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 3,9 mm, atau yang sesuai, suhu 50°C.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 205 nm.

Injek larutan standar, simpangan baku relative tidak lebih dari 3,0%.

Injek 25 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus:

$$250 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi kalsium pantotenat dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>S</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

### Niasin atau niasinamid, piridoksin hidroklorida, riboflavin dan tiamin hidroklorida

#### Vitamin B<sub>3</sub> (niasin)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut :

- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan pengencer.** Campur air, asetonitril, dan asam asetat glasial (94:5:1).

**Fase gerak.** Campur air, metanol, dan asam asetat glasial (73:27:1) yang mengandung 140 mg natrium 1-heksansulfonat per 100 ml. Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan standar.** Pada 80 mg standar niasinamid, 20 mg standar piridoksin hidroklorida, 20 mg standar riboflavin, dan 20 mg standar tiamin hidroklorida, tambah 180 ml larutan pengencer. Rendam labu dalam penangas air pada suhu 65°—70°C selama 10 menit sambil diaduk sampai larut. Dinginkan segera dalam air dingin selama 10 menit pada suhu ruang, encerkan dengan larutan pengencer sampai batas volume 200 ml dan aduk.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara 10 mg niasinamid dan 2,5 mg setiap piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin hidroklorida, tambah 25 ml larutan pengencer, dan aduk selama 30 detik sampai larut. Rendam tabung sentrifus dalam penangas air pada suhu 65°—70°C, panaskan selama 5 menit, dan aduk selama 30 detik. Masukkan kembali tabung ke dalam penangas air, panaskan kembali selama 5 menit, dan aduk selama 30 detik. Saring larutan, dinginkan pada suhu ruang, dan gunakan saringan. [Catatan - gunakan saringan dalam jangka waktu 3 jam].

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 3,9 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm.

Injek larutan standar, waktu tambat relatif dari niasinamid, piridoksin, riboflavin, dan tiamin adalah sekitar 0,3; 0,5; 0,8; dan 1,0; simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 25 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$25 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi niasin dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

- Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan pengekstrak.** Pada 1 ml asam asetat glasial dan 2,5 g dinatrium edetat larutkan dan encerkan dengan air sampai bats volume 100 ml dan aduk. Campur larutan dengan metanol (75:25).

**Fase gerak.** Natrium asetat 0,1 M (larutkan 13,6 g natrium asetat ke dalam 1000 ml air. Atur pH 5,4 dengan asam asetat dan aduk. Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi). Pada fase gerak, tambah metanol sampai konsentrasi 1%.

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan standar niasin dalam larutan pengekstrak sampai konsentrasi 1 mg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan 5 ml stok standar dengan larutan pengeskrak sampai volume 25 ml.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara dengan 2 mg riboflavin atau setara dengan 2 mg piridoksin atau setara dengan 20 mg niasin atau niasinamid, tambah 100 ml larutan pengekstrak dan aduk selama 20 menit dalam penangas air pada suhu 70°—75°C, dan panaskan selama 20 menit. Aduk selama 30 detik, dinginkan pada suhu ruang dan saring. Gunakan hasil saringan.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Injek standar, simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%. Jika diperlukan, bilas kolom dengan metanol.

Injek 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$100 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi niasin dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

- Lakukan dengan metode kromatografi cair (untuk niasin atau niasinamida, piridoksin hidroklorida, riboflavin dan tiamin).

**Pereaksi.** Larutan 25 g dinatrium edetat dalam 1000 ml air.

**Fase gerak.** Pada 0,4 ml trietilamin, 15,0 ml asam asetat glasial dan 350 ml metanol, tambah natrium 1-heksansulfonat 0,008 M smpai batas volume 2000 ml dan aduk. Saring dan gunakan hasil saringan. Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan standar niasin atau niasinamid, piridoksin hidroklorida, riboflavin, dan tiamin hidroklorida dengan pereaksi (jika perlu, panaskan), sampai konsentrasi 1,5 mg/ml (niasin atau niasinamid), 0,24 mg/ml (piridoksin hidroklorida), 0,08 mg/ml (riboflavin) dan 0,24 mg/ml (tiamin hidroklorida).

**Larutan standar.** Pada 5 ml larutan stok standar, tambah 10 ml campuran metanol dan asam asetat glasial (9 : 1) dan 30 ml campuran metanol dan etilen glikol (1:1). Sumbat, aduk selama 15 menit dalam penangas air pada suhu 60°C, dan dinginkan. Saring dan buang beberapa ml hasil saringan pertama.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara 7,5 mg niasin atau niasinamid, 1,2 mg piridoksin hidroklorida, 0,4 mg riboflavin, dan 1,2 mg tiamin hidroklorida. Tambah 10 ml campuran metanol dan asam asetat glasial (9:1), 30 ml campuran metanol dan etilen glikol (1 : 1). Sumbat dan aduk selama 15 menit dalam penangas air pada suhu 60°C, dan dinginkan. Saring dan buang beberapa ml hasil saringan pertama.

**Kolom.** Oktilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai. Suhu 50°C.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 270 nm.

Injek standar; simpangan baku relatif tidak lebih dari 2%.

Injek 5 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$40 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi niasin dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

### Vitamin B<sub>3</sub> (niasinamid)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut :

- Lihat metode 1 untuk niasin.
- Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan: Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar niasin, metode 2, menggunakan: larutan pengekstrak, fase gerak, larutan stok standar, larutan standar, larutan uji, dan sistem kromatografik.

Injek 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$100 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi niasinamid dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>std</sub> = area puncak larutan standar

3. Lihat metode 3 untuk niasin.

### Vitamin B<sub>6</sub> (piridoksin hidroklorida)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut :

1. Lihat metode 1 untuk niasin.
2. Lakukan dengan kromatografi cair, menggunakan:

Lakukan seperti yang tertera dalam penetapan kadar niasin, metode 2, menggunakan: larutan pengekstrak, fase gerak.

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan standar piridoksin hidroklorida dalam larutan pengekstrak sampai konsentrasi 0,1 mg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan 5 ml larutan stok standar dengan larutan pengekstrak sampai volume 25 ml dan aduk.

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasin, metode 2.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Injek standar, simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus:

$$100 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi piridoksin hidroklorida dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>std</sub> = area puncak larutan standar

3. Lihat metode 3 untuk niasin.

### Vitamin B<sub>2</sub> (riboflavin)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut :

1. Lihat metode 1 untuk niasin.
2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Larutan pengekstrak.** Lihat metode 2 untuk niasin.

**Fase gerak.** Larutkan 6,8 g natrium asetat dalam 1000 ml air dan aduk. Campur larutan dengan metanol (65:35). Tambah 2 ml trietilamin, atur pH 5,2 dengan asam asetat glasial. Jika perlu, lakukan penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Pada 20 mg standar riboflavin, tambah 180 ml larutan pengekstrak dan panaskan selama 5 menit dalam penangas air pada suhu 65°–75°C dan aduk. (Jika diperlukan ulangi proses tersebut sampai larut). Dinginkan dalam air dingin pada suhu ruang, encerkan dengan larutan pengekstrak sampai batas volume 2000 ml dan aduk.

**Larutan standar.** Encerkan 5 ml larutan stok standar dengan larutan pengekstrak sampai volume 25 ml dan aduk.

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam penetapan kadar niasin, metode 2.

**Kolom.** Oktadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Laju alir.** 1 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Injek larutan standar, simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$100 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi riboflavin dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>std</sub> = area puncak larutan standar

3. Lihat metode 3 untuk niasin.

### Vitamin B<sub>1</sub> (tiamin)

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut :

1. Lihat metode 1 untuk niasin.
2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Fase gerak.** Larutkan 1,88 g natrium 1-heksansulfonat dalam 1000 ml asam fosfat (0,1%). Campur larutan dengan asetonitril (92:18). Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan standar tiamin hidroklorida dalam asam hidroklorida 0,2 M sampai konsentrasi 0,1 mg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan 5 ml larutan stok standar dengan asam hidroklorida 0,2 M sampai volume 25 ml.

**Larutan uji.** Larutkan sediaan setara dengan 2 mg tiamin dalam 100 ml asam hidroklorida 0,2 M, aduk selama 15 menit dan didihkan selama 30 menit.

Dinginkan pada suhu ruang, dan saring. Gunakan saringan.

**Kolom.** Okatadesilsilil, ukuran 25 cm x 4,6 mm, atau yang sesuai.

**Laju alir.** 2 ml/menit.

**Detektor.** Spektrofotometer pada panjang gelombang 254 nm.

Injek standar, simpangan baku relatif tidak lebih dari 3%.

Injek 20 µl larutan standar dan larutan uji.

Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$100 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan:

C = konsentrasi tiamin dalam larutan standar (mg/ml)

A<sub>s</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

### Besi

Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan :

**Larutan stok standar besi.** Pada 100 mg standar besi larutkan dalam 25 ml asam hidroklorida 6 M, encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml dan aduk.

**Larutan standar.** Encerkan 2,0; 4,0; 5,0; 6,0 dan 8,0 ml larutan stok standar besi dengan air sampai konsentrasi 2,0; 4,0; 5,0; 6,0 dan 8,0 µg/ml.

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam pengujian kalsium, kecuali untuk persiapan larutan uji mengandung 5 µg/ml dan hilangkan penggunaan larutan lantanum klorida.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus:

$$0,001 CD$$

Keterangan :

D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji

### Fluorida

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode volt-meter, menggunakan:

**Larutan natrium asetat 3 M.** Larutkan 408 g natrium asetat dalam 600 ml air labu -1000 ml. Biarkan larutan sampai ekuilibrium tercapai pada suhu ruang, encerkan dengan air sampai volume 1000 ml dan aduk. Atur pH 7,0 dengan asam asetat 7.

**Larutan natrium sitrat.** Larutkan 222 g natrium sitrat dalam 250 ml air, tambahkan 28 ml asam perklorat dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml dan aduk.

**Larutan stok standar fluorida.** Pindahkan 1,105 g standar natrium fluorida (sebelumnya dikeringkan pada suhu 100°C selama 4 jam dan dinginkan dalam

desikator), ke dalam labu-1000 ml. Larutkan dan encerkan dengan air sampai konsentrasi 500 µg/ml.

**Larutan stok intermediate -1.** Pipet 20 ml larutan stok standar fluorida ke dalam labu -100 ml, encerkan dengan air sampai konsentrasi 100 µg/ml.

**Larutan stok intermediate -2.** Pipet 20 ml larutan stok standar fluorida ke dalam labu -100 ml, encerkan dengan air sampai konsentrasi 10 µg/ml.

**Larutan standar.** Pada lima labu - 100 ml yang terpisah, pindahkan 3,0; 5,0 dan 10,0 ml larutan stok intermediate-2 serta 5,0 dan 10,0 ml larutan stok intermediate-1. Untuk setiap labu, tambah 10 ml asam hidroklorida 1 M, 25 ml larutan natrium asetat 3 M dan 25 ml larutan natrium sitrat. Encerkan isi setiap labu dengan air sampai konsentrasi 0,3; 0,5; 1,0; 5,0 dan 10,0 µg/ml.

**Larutan uji.** Pindahkan sediaan setara dengan 200 µg fluorida, ke dalam labu -100 ml. Larutkan dalam 10 ml asam hidroklorida 1 M, 25 ml larutan natrium asetat 3 M, dan 25 ml larutan natrium sitrat, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Prosedur.** Pada 50 ml larutan standar dan larutan uji pada gelas piala plastik terpisah,

Ukur potensial (lihat pH), dalam mV, larutan standar dan larutan uji, dengan pH meter mampu reproduktibilitas minimum ±0,2 mV dan lengkapi dengan elektroda spesifik untuk ion fluorida serta elektroda standar kalomel. [ketika pengukuran dilakukan, benamkan elektroda dalam larutan yang diaduk dengan magnetic stirrer selama 1—2 menit], dan catat potensial. Bilas dan keringkan elektroda antara pengukuran secara hati-hati untuk menghindari merusakkan kristal elektroda ion-spesifik]. Buat kurva respon standar dalam µg/ml dengan potensial dalam mV. Hitung konsentrasi, C (µg/ml), dari fluorida dalam larutan uji. Hitung kadar dari fluorida (mg) pada sediaan menggunakan rumus :

$$0,1 C$$

2. Lakukan dengan metode kromatografi cair, menggunakan:

**Dapar pH 10.** Tambah 214 ml natrium hidroksida 0,1 M ke 1000 ml natrium bikarbonat 0,05 M.

**Fase gerak.** Campur air, alkohol dan asam sulfat 0,1 M (175:20:5). Jika perlu, buat penyesuaian (lihat kesesuaian sistem kromatografi).

**Larutan stok standar.** Larutkan dan encerkan standar natrium fluorida dalam air sampai konsentrasi fluorida 100 µg/ml.

**Larutan standar.** [Kondisikan kolom ekstraksi fase-padat (*solid phase extraction*) dengan tekanan tidak lebih dari 5 mm air raksa: bilas kolom dengan metanol kemudian dengan dapar pH 10. Jangan biarkan puncak kolom kering]. Pindahkan 10 ml larutan stok standar ke dalam labu-100 ml. Tambah 75 ml air, atur pH 10,4 ± 0,1 dengan natrium hidroksida 0,1 M. Encerkan dengan air sampai batas volume

100 mldan aduk. Saring, buang 15 ml hasil saringan pertama. Pindahkan 25 ml hasil saringan ke dalam labu-50 ml, tambah 15 ml air atur pH 10,0 dengan natrium hidroksida 0,1 M. Encerkan dengan dapar pH 10 sampai volume 50 ml dan aduk. Elusikan sebagian larutan melalui kolom ekstraksi fasa-padat 3 ml berisi oktadesilsilil yang dihubungkan melalui satu adaptor ke kolom ekstraksi fasa-padat kedua berisi penukar ion sulfonil propil. Buang 3 ml eluat pertama, dan kumpulkan sisa eluat vial untuk injeksi ke kromatografi.

**Larutan uji.** Pindahkan sediaan setara dengan 1 mg fluorida ke labu pisah-100 ml, tambah 15 ml air dan aduk. Bilas sisi botol dengan 15 ml air dan biarkan selama 10 menit. Encerkan dengan air sekitar 85 ml, atur pH 10,4 ± 0,1 dengan natrium hidroksida 1 M, encerkan dengan air sampai batas volume 100 mldan aduk. Lakukan seperti dalam larutan standar, dimulai dengan ".....saring buang 15 ml hasil saringan pertama".

**Kolom pelindung.** Resin penukar ion dari stiren divinil benzen sulfonat, ukuran 3 cm x 4,6 mm atau yang sesuai.

**Kolom analitik.** Resin penukar ion dari stiren divinil benzen sulfonat, ukuran 30 cm x 7,8 mm.

**Laju alir.** 0,5 ml/menit.

**Detektor.** Konduktivitas.

Injek larutan standar, simpangan baku relatif tidak lebih dari 2%.

Injek 100 µl larutan standar dan larutan uji ke dalam kromatograf dan ukur area puncak. Hitung kadar (mg) dengan rumus :

$$0,2 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi fluorida dalam larutan standar (µg/ml)

A<sub>S</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

### Fosfor

Lakukan dengan metode spektrofotometri, menggunakan:

**Larutan asam sulfat.** Tambahkan 37,5 ml asam sulfat ke dalam 100 ml air dan aduk.

**Larutan standar amonium molibdat.** Larutkan standar 12,5 g amonium molibdat dalam 150 ml air. Tambah 100 ml larutan asam sulfat dan aduk.

**Larutan hidrokinon.** Larutkan 0,5 g hidrokinon dalam 100 ml air dan tambahkan satu tetes asam sulfat.

**Larutan natrium bisulfit.** Larutkan 20 g natrium bisulfit dalam 100 ml air.

**Larutan stok standar fosfor.** Larutkan 4,395 g kalium fosfat monobasa (sebelumnya ikeringkan pada suhu 105°C selama 2 jam dan simpan dalam desikator) dalam air, tambah 6 ml asam sulfat sebagai pengawet,

encerkan dengan air sampai konsentrasi 1000 µg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan stok standar dalam air sampai konsentrasi konsentrasi 20 µg/ml.

**Larutan uji.** Pada sediaan setara 100 mg fosfor, tambah 25 ml asam nitrat, panaskan diatas plat panas selama 30 menit. Tambah 15 ml asam hidroklorida, dan lanjutkan pemanasan sampai larutan jernin. Dinginkan dan pindahkan isi ke dalam labu- 500 ml dengan bantuan air. Encerkan dengan air sampai batas volume 500 ml dan aduk. Encerkan 10 ml larutan dengan air sampai batas volume 100-ml dan aduk.

Hitung kadar (µg) dari fosfor pada tablet menggunakan rumus :

$$5 C \left( \frac{A_S}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi molibdenum dalam larutan standar (µg/ml)

A<sub>S</sub> = area puncak larutan uji

A<sub>Std</sub> = area puncak larutan standar

### Iodium

Lakukan penetapan kadar dengan metode titrasi, menggunakan:

**Air brom.** Pada 20 ml brom dalam botol, tambah 100 ml air. Sumbat botol dan kocok. Biarkan selama 30 menit, dan gunakan supernatan.

**Prosedur.** Pindahkan sediaan setara 3 mg iodid, ke dalam krusibel nikel. Tambah 5 g natrium karbonat, 5 ml larutan natrium hidroksida (50% b/v) dan 10 ml alkohol, Panaskan krusibel di atas penangas air untuk menguapkan alkohol, kemudian kering kan crucible pada suhu 100°C selama 30 menit. Pindahkan krusibel dengan isinya ke dalam tungku perapian dan panaskan dengan suhu 500°C selama 15 menit. [Pemanasan diatas suhu 500°C mungkin diperlukan untuk, untuk memastikan perubahan menjadi karbondioksida sempurna dari semua bahan organik] Dinginkan krusibel, tambahkan 25 ml air, tutup krusibel dengan gelas arloji dan didihkan dengan pelahan-lahan selama 10 menit. Saring dan bilas krusibel dengan air mendidih, kumpulkan hasil-saringan dan air bilasan dalam gelas piala. Tambahkan asam fosfat sampai larutan netral terhadap metil jingga, kemudian tambahkan 1 ml asam fosfat. Tambahkan air brom berlebih dan didihkan larutan sampai tidak berwarna. Tambahkan beberapa kristal asam salisilat, dan dinginkan larutan sampai suhu 20°C. Tambah 1 ml asam fosfat dan 0,5 g kalium iodida, Titrasi iodium bebas menggunakan natrium tiosulfat 0,005 M, dan larutan kanji sebagai indikator sampai tidak berwarna. Hitung kadar (µg), iodium pada tablet menggunakan rumus:

$$\frac{105,8 V N}{0,005}$$

Keterangan :

V = volume (ml), dari natrium tiosulfat

M = molaritas natrium tiosulfat

**Kalium**

Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan:

**Larutan stok standar kalium.** Larutkan dan encerkan 190,7 mg kalium klorida (sebelumnya dikeringkan pada suhu 105°C selama 2 jam) dengan air sampai konsentrasi 100 µg/ml.

**Larutan standar.** encerkan larutan stok standar kalium dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 10 µg/ml. Pindahkan masing-masing 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 dan 25,0 ml larutan standar pada labu-100 ml yang terpisah. Encerkan dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5 µg/ml.

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam pengujian kalsium, kecuali untuk persiapan larutan uji mengandung 1 µg/ml dan hilangkan penggunaan larutan lantanum klorida.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus :

$$0,001 CD$$

Keterangan :

D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji

**Kalsium**

Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan:

**Larutan lantanum klorida.** Larutkan 26,7 g lantanum klorida heptahidrat dalam asam hidroklorida 0,125 M sampai volume 100 ml.

**Larutan stok standar kalsium.** Pada 1,001 g kalsium karbonat (sebelumnya dikeringkan pada suhu 300°C selama 3 jam dan dinginkan dalam desikator selama 2 jam), larutkan dalam 25 ml asam hidroklorida 1 M. Didihkan untuk menghilangkan karbon dioksida, dan encerkan dengan air sampai konsentrasi kalsium 400 µg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan larutan stok standar kalsium dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi kalsium 100 µg/ml. Pindahkan masing-masing 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 dan 3,0 ml larutan standar. Tambah 1 ml larutan lantanum klorida, encerkan dengan air sampai konsentrasi kalsium 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 dan 3,0 µg/ml.

**Larutan uji.** Pindahkan sediaan setara dengan 5 tablet ke dalam krusibel porselin. Panaskan pada 550°C selama 6—12 jam dan dinginkan. Tambah 60 ml asam hidroklorida dan didihkan di atas penangas air selama 30 menit sambil di bilas permukaan bagian dalam krusibel dengan asam hidroklorida 6 M. Dinginkan, dan pindahkan ke dalam labu 100 ml. Bilas krusibel dengan sedikit asam hidroklorida 6 M dan masukkan hasil bilasan ke dalam labu. Encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml, aduk, dan saring, buang 5 ml hasil saringan pertama. Encerkan larutan dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 2 µg/ml, tambah 1 ml larutan lantanum klorida setiap 100 ml volume akhir.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus :

$$0,001 CD$$

Keterangan :

D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji

**Kromium**

Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan :

**Larutan stok standar kromium.** Larutkan dan encerkan 2,829 g kalium dikromat (sebelumnya dikeringkan pada suhu 120°C selama 4 jam), larutkan dan encerkan dengan air sampai konsentrasi kromium 1000 µg/ml. Simpan dalam botol politilen.

**Larutan standar.** Pada 10 ml larutan stok standar kromium, tambah 50 ml asam hidroklorida 6 M, encerkan dengan air sampai konsentrasi 10 µg/ml. Pindahkan 10 ml dan 20 ml larutan standar ke dalam labu -100 ml terpisah, dan pindahkan 15 ml dan 20 ml larutan standar ke dalam labu -50 ml terpisah. Encerkan empat labu terbut dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 1,0; 2,0; 3,0 dan 4,0 µg/ml.

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam pengujian kalsium, kecuali untuk persiapan larutan uji mengandung 1 µg/ml dan hilangkan penggunaan larutan lantanum klorida.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus :

$$CD$$

Keterangan :

D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji

**Magnesium**

Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan :

**Larutan lantanum klorida.** Siapkan seperti dalam pengujian kalsium.

**Larutan stok standar magnesium.** Larutkan 1 g magnesium dalam 50 ml asam hidroklorida 6 M, encerkan dengan air sampai konsentrasi 1000 µg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan stok standar magnesium dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 20 µg/ml. Pindahkan 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 dan 3,0 ml larutan standar kedalam labu -100 ml yang terpisah. Tambah 1 ml larutan lantanum klorida dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 dan 0,6 µg/ml.

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam pengujian kalsium, kecuali untuk persiapan larutan uji mengandung 0,4 µg/ml.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus :

$$0,001 CD$$

Keterangan :

D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji

**Mangan**

Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan:

**Larutan stok standar mangan.** Larutkan 1 g mangan dalam 20 ml asam nitrat, encerkan dengan asam hidroklorida 6 M sampai konsentrasi 1000 µg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan 10 ml larutan stok standar mangan dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 50 µg/ml. Pindahkan 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 dan 4,0 ml larutan standar ke dalam labu terpisah dan encerkan dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 0,5; 0,75; 1,0; 1,5 dan 2,0 µg/ml.

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam pengujian kalsium, kecuali untuk persiapan larutan uji mengandung 1 µg/ml dan hilangkan penggunaan larutan lantanum klorida.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus :

$$0,001 CD$$

Keterangan :

D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji

**Molibdenum**

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut :

1. Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom menggunakan:

**Larutan pengencer.** Larutkan 40 g dari amonium klorida dalam 2000 ml air.

**Larutan stok standar molibdenum.** Larutkan 1 g molibdenum dalam 50 ml asam nitrat. Encerkan dengan air sampai konsentrasi 1000 µg/ml.

**Larutan standar.** Encerkan 10 ml larutan stok standar molibdenum dengan air sampai konsentrasi 100 µg/ml. Pindahkan 2,0; 10,0 dan 25,0 ml larutan ke dalam labu terpisah, tambah 5 ml asam perklorat. Didihkan selama 15 menit, dinginkan pada suhu ruang, encerkan dengan larutan pengencer sampai konsentrasi 5,0; 10,0 dan 25,0 µg/ml.

**Larutan uji.** Larutkan sediaan setara 1000 µg molibdenum dalam 12 ml asam nitrat. Secara hati-hati aduk botol dan sonikasi selama 10 menit atau sampai larut. Didihkan larutan selama 15 menit dan dinginkan pada suhu ruang. Secara hati-hati tambahkan 8 ml asam perklorat, panaskan sampai asam perklorat tampak menguap, aduk botol untuk mengusir uap. Ulangi pemanasan dan aduk. Dinginkan pada suhu ruang. Pindahkan isi botol ke dalam labu -100 ml dengan bantuan larutan pengencer, encerkan dengan larutan pengencer sampai batas volume 100,0 ml dan aduk.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus :

$$0,001 CD$$

Keterangan :

D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji

2. Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Larutan natrium fluorida.** Larutkan 10 g natrium fluoride dalam 200 ml air, aduk dan saring. Simpan dalam tabung politlen.

**Larutan besi sulfat.** Larutkan dan encerkan 498 mg besi sulfat dalam air sampai volume 100 ml.

**Larutan kalium tiosianat.** Larutkan dan encerkan 20 g kalium tiosianat dalam air sampai batas volume 100 ml.

**Larutan timah (II) klorida 20%.** Pada 40 g timah (II) klorida tambahkan 20 ml asam hidroklorida 6,5 M. Panaskan sampai larut. Dinginkan dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml dan aduk.

**Larutan timah (II) klorida encer.** Encerkan 4 ml larutan timah (II) klorida 20% dengan air sampai batas volume 100 ml. Larutan harus segar.

**Larutan standar.** Larutkan dan encerkan 92 mg amonium molibdat dengan air sampai batas volume 500 ml, aduk. Encerkan 20 ml dengan air sampai konsentrasi 20 µg/ml.

**Prosedur.** Pindahkan sediaan setara 40 µg molibdenum, ke dalam gelas piala -200 ml (I). Pindahkan 2 ml larutan standar ke dalam gelas piala -200 ml (II). Tambah 20 ml asam nitrat. Tutup dengan gelas arloji, dan didihkan secara perlahan di atas plat panas selama 45 menit. Dinginkan pada suhu ruang, tambahkan 6 ml asam perklorat, tutup dengan gelas arloji dan lanjutkan pemanasan sampai larut sempurna yang ditunjukkan saat cairan tidak berwarna atau kekuningan. Jika diperlukan, tambahkan asam nitrat dan asam perklorat ke dalam gelas (I). Uapkan sampai kering. Bilas sisi gelas dan gelas arloji dengan air, dan tambahkan lebih banyak air sampai volume 50 ml. Didihkan selama beberapa menit dan dinginkan pada suhu ruang. Tambah 2 tetes metil jingga ke dalam gelas piala, dan netralkan dengan amonium hidroksida. Tambah 8,2 ml asam hidroklorida. Pindahkan isi gelas piala pada labu-100 ml yang terpisah. Bilas gelas dengan air, pindahkan hasil bilasan ke dalam masing-masing labu, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml dan aduk.

Pindahkan 50 ml setiap larutan dari gelas piala (I) dan (II) ke dalam labu pisah. Tambah 1 ml larutan natrium fluorida, 0,5 ml larutan besi sulfat, 4,0 ml larutan kalium tiosianat, 1,5 ml larutan timah (II) klorida 20% dan 15 ml amil alkohol dan aduk selama 1 menit. Biarkan sampai lapisan terpisah dan buang lapisan yang mengandung air. Tambahkan 25 ml timah (II) klorida encer ke dalam dan aduk selama 15 detik. Biarkan lapisan terpisah dan buang lapisan yang mengandung air.

Pindahkan fase organik ke dalam tabung sentrifus yang terpisah dan sentrifus 2000 rpm selama 10 menit.

Ukur serapan pada panjang gelombang 465 nm, gunakan amil alkohol sebagai blanko.

Hitung kadar ( $\mu\text{g}$ ) dari molibdenum (Mo) pada tablet menggunakan rumus :

$$2 C \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

C = konsentrasi molibdenum dalam larutan standar ( $\mu\text{g/ml}$ )

$A_s$  = area puncak larutan uji

$A_{Std}$  = area puncak larutan standar

### Selenium

Lakukan penetapan kadar dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom menggunakan:

**Larutan pengencer.** Siapkan seperti dalam pengujian molibdenum, metode 1.

**Larutan stok standar selenium.** [Perhatian: selenium adalah beracun; tangani dengan hati-hati]. Larutkan 1 g selenium dalam volume minimum asam nitrat. Uapkan hingga kering, tambah 2 ml air dan uapkan hingga kering. Ulangi proses 3 kali. Larutkan residu dalam asam hidroklorida 3 M, pindahkan ke dalam labu-1000 ml, encerkan dengan asam hidroklorida 3 M sampai konsentrasi 1000  $\mu\text{g/ml}$ .

**Larutan standar.** Encerkan 10 ml larutan stok standar selenium dengan air konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$ . Pindahkan 5,0; 10,0 dan 25,0 ml larutan standar pada labu-100 ml yang terpisah dan tambah 5 ml asam perklorat. Didihkan larutan selama 15 menit, dinginkan pada suhu ruang, encerkan dengan air sampai konsentrasi 5,0; 10,0 dan 25,0  $\mu\text{g/ml}$ .

**Larutan uji.** Pada sediaan, setara dengan 1000  $\mu\text{g}$  selenium, tambah 12 ml asam nitrat. Secara hati-hati aduk botol dan sonikasi selama 10 menit atau sampai larut. Didihkan larutan selama 15 menit dan dinginkan pada suhu ruang. Secara hati-hati tambahkan 8 ml asam perklorat, panaskan botol sampai terlihat asap dan aduk. Ulangi pemanasan dan aduk sampai larutan jernih. Dinginkan pada suhu ruang. Pindahkan ke dalam labu- 50 ml dengan bantuan larutan pengencer dan encerkan dengan larutan pengencer sampai volume 50 ml dan aduk.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus:

$$0,001 CD$$

Keterangan :

D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji

2. Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan:

**Asam hidroklorida.** Encerkan 50 ml asam hidroklorida dengan air sampai batas volume 500 ml dan aduk.

**Larutan amonium hidroksida 50%.** Encerkan 250 ml amonium hidroksida dengan air sampai batas volume 500 ml dan aduk.

**Pereaksi-1.** Larutkan 4,5 g dinatrium edetat dalam 400 ml air, tambah 12,5 g hidroksilamin hidroklorida, encerkan dengan air sampai batas volume 500 ml dan aduk.

**Pereaksi-2.** Pada 200 mg 2,3-diaminonaftalen tambah 200 ml asam hidroklorida 0,1 M. Ekstraksi 3 kali, masing-masing 40 ml sikloheksan dan buang lapisan sikloheksan. Saring larutan ke dalam botol coklat dan tutup larutan dengan lapisan 1-cm sikloheksan. Larutan ini stabil selama 1 minggu jika disimpan dalam lemari pendingin.

**Larutan stok standar.** [Perhatian: selenium adalah beracun; tangani dengan hati-hati]. Larutkan 1 g selenium dalam volume minimum asam nitrat. Uapkan hingga kering, tambahkan 2 ml air, dan uapkan hingga kering. Ulangi proses ini tiga kali. Larutkan residu dalam asam hidroklorida 3 M, pindahkan ke dalam labu-1000 ml, encerkan dengan asam hidroklorida 3 M sampai konsentrasi 1000  $\mu\text{g/ml}$ . Encerkan larutan dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 2,0  $\mu\text{g/ml}$ .

**Larutan uji.** Pada sediaan setara 20  $\mu\text{g}$  selenium, tambah 10 ml asam nitrat, dan hangatkan di atas plat panas. Lanjutkan pemanasan sampai reaksi awal asam nitrat telah surut, kemudian tambahkan 3 ml asam perklorat. [Perhatian; hati-hati pada tahap karena reaksi asam perklorat bias kuat]. Lanjutkan pemanasan di atas plat panas sampai muncul uap. Tambah 0,5 ml asam nitrat dan panaskan kembali, tambah kembali sejumlah asam nitrat, larutan menjadi gelap. Panaskan selama 10 menit setelah muncul uap atau sampai larutan tidak berwarna. Dinginkan botol tambah 2,5 ml larutan asam hidroklorida dan panaskan diatas plat panas untuk mengeluarkan sisa asam nitrat. Panaskan campuran selama 3 menit setelah mulai mendidih. Dinginkan pada suhu ruang, dan encerkan dengan air sampai volume 20 ml.

**Prosedur.** Pada 10 ml larutan stok standar, tambah 1 ml asam perklorat dan 1 ml asam hidroklorida dan encerkan dengan air sampai volume 20 ml (larutan standar). Siapkan blanko dengan 1 ml asam perklorat dan 1 ml larutan asam hidroklorida dan encerkan dengan air sampai volume 20 ml. Perlakukan larutan uji, larutan standar dan blanko sebagai berikut: Tambahkan 5 ml pereaksi-1, dan aduk, atur pH  $1,1 \pm 0,1$  dengan amonium hidroksida 50%. Tambah 5 ml pereaksi-2 dan aduk dengan. Tempatkan larutan diatas penangas air pada suhu  $50^\circ\text{C}$ , dan ekuilibrisasi selama 30 menit (lindungi dari cahaya). Dinginkan pada suhu ruang, dan pindahkan kedalam labu pan pada panjang gelombang pisah. Tambah 10 ml sikloheksan ke dalam setiap labu dan ekstrak selama 1 menit. Buang lapisan yang mengandung air. Sentrifus fase sikloheksan pada 1000 rpm selama 1 menit untuk sisa air.



Ukur serapan pada panjang gelombang 380 nm. Hitung kadar ( $\mu\text{g}$ ) dari selenium (Se) pada sediaan menggunakan rumus :

$$CD \left( \frac{A_s}{A_{Std}} \right)$$

Keterangan :

- C = konsentrasi selenium dalam larutan stok standar ( $\mu\text{g/ml}$ )  
 D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji  
 $A_s$  = area puncak larutan uji  
 $A_{Std}$  = area puncak larutan standar

### Seng

Lakukan dengan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan:

**Larutan stok standar seng.** Pada 311 mg standar seng oksida tambah 80 ml asam hidroklorida 5 M, hangatkan jika diperlukan sampai larut. Dinginkan dan encerkan dengan air sampai 1000  $\mu\text{g/ml}$ .

**Larutan standar.** Encerkan larutan stok standar seng dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 50  $\mu\text{g/ml}$ . Pindahkan 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 dan 5,0 ml ke dalam labu – 100 ml terpisah. Encerkan dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5  $\mu\text{g/ml}$ .

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam pengujian kalsium, kecuali untuk persiapan larutan uji mengandung 2  $\mu\text{g/ml}$  dan hilangkan penggunaan larutan lantanum klorida.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus:

$$0,001 CD$$

Keterangan :

- D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji

### Tembaga

Lakukan penetapan kadar menggunakan metode spektrofotometer serapan atom, menggunakan :

**Larutan stok standar tembaga.** Larutkan 1 g kertas perak dalam volume kecil asam nitrat (50% v/v), dan encerkan dengan larutan asam nitrat (1% v/v) sampai bats volume 1000 ml. (1000  $\mu\text{g/ml}$ ).

**Larutan standar.** Pada 10 ml larutan stok standar tembaga encerkan dengan asam hidroklorida 0,125 M sampai konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$ . Pada labu – 200 ml terpisah, pindahkan 1,0; 2,0; 4,0; 6,0 dan 8,0 ml larutan standar, encerkan dengan air sampai konsentrasi 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 dan 4,0  $\mu\text{g/ml}$ .

**Larutan uji.** Lakukan seperti dalam pengujian kalsium, kecuali untuk persiapan larutan uji mengandung 2  $\mu\text{g/ml}$  dan hilangkan penggunaan larutan lantanum klorida.

Hitung kadar (mg/ml) dengan rumus :

$$0,001 CD$$

Keterangan :

- D = faktor pelarut yang digunakan untuk menyiapkan larutan uji

### Penyimpanan

Disimpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung dari cahaya.

### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi. 2) Jenis sediaan. 3) Indikasi. 4) Waktu kadaluwarsa. 5) Kondisi penyimpanan.

## Vitamin Larut Lemak

### Vitamin Larut Lemak Kapsul

#### Definisi

Vitamin larut lemak dalam sediaan kapsul mengandung dua atau lebih vitamin larut lemak yaitu: vitamin A, vitamin D sebagai ergokalsiferol (vitamin  $D_2$ ) atau kolekalsiferol (vitamin  $D_3$ ), vitamin E, fitonadion (vitamin  $K_1$ ), dan  $\beta$ -karoten. Dapat mengandung zat lain yang tertera di label dengan jumlah yang akurat.

Kapsul memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan kapsul dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang 80,0% dari jumlah yang tertera pada vitamin A ( $C_{20}H_{30}O$ ) sebagai retinol atau ester retinol dalam bentuk retinil asetat ( $C_{22}H_{32}O_2$ ) atau retinil palmitat ( $C_{36}H_{46}O_2$ ), vitamin D sebagai kolekalsiferol ( $C_{27}H_{44}O$ ) atau ergokalsiferol ( $C_{28}H_{44}O$ ), vitamin E sebagai  $\alpha$ -tokoferol ( $C_{29}H_{50}O_2$ ),  $\alpha$ -tokoferil asetat ( $C_{31}H_{52}O_3$ ), atau  $\alpha$ -tokoferil suksinat ( $C_{33}H_{54}O_5$ ), fitonadion ( $C_{31}H_{46}O_2$ ), dan  $\beta$ -karoten ( $C_{40}H_{56}$ ).

#### Identifikasi

Lakukan seperti pada penetapan kadar.

**Waktu hancur.** Memenuhi persyaratan untuk waktu hancur.

**Keseragaman berat.** Memenuhi persyaratan.

**Catatan.** Dalam penetapan kadar berikut, dimana lebih dari satu metode penetapan kadar digunakan untuk zat aktif tunggal, persyaratan dipenuhi dengan salah satu metode yang telah ditentukan.

#### Penetapan kadar

##### Vitamin A (retinol)

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan seperti dalam penetapan kadar vitamin A, metoda 1 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).
- Lakukan seperti dalam penetapan kadar vitamin A, metoda 2 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).

- Lakukan seperti dalam penetapan kadar vitamin A, metoda 3 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).

#### Vitamin D (kolekalsiferol atau ergokalsiferol)

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan seperti dalam penetapan kadar kolekalsiferol atau ergokalsiferol (vitamin D), metoda 1 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).
- Lakukan seperti dalam penetapan kadar kolekalsiferol atau ergokalsiferol (vitamin D), metoda 2 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).
- Lakukan seperti dalam penetapan kadar kolekalsiferol atau ergokalsiferol (vitamin D), metoda 3 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).

#### Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol, $\alpha$ -tokoferil asetat, atau $\alpha$ -tokoferil suksinat)

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan seperti dalam penetapan kadar vitamin E, metoda 1 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).
- Lakukan seperti dalam penetapan kadar vitamin E, metoda 2 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).
- Lakukan seperti dalam penetapan kadar vitamin E, metoda 3 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).

#### Vitamin K (fitonadion)

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan seperti dalam penetapan kadar fitonadion, metoda 1 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).
- Lakukan seperti dalam penetapan kadar fitonadion, metoda 2 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).

#### $\beta$ -Karoten

Lakukan seperti dalam penetapan kadar  $\beta$ -karoten (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).

#### Penyimpanan

Disimpan dalam wadah, tertutup rapat dan terlindung dari cahaya.

#### Penandaan

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Jenis sediaan, 3) Indikasi, 4) Waktu kadaluwarsa, 5) Kondisi penyimpanan.

## Vitamin Larut Lemak Tablet

#### Definisi

Vitamin larut lemak dalam sediaan tablet mengandung dua atau lebih vitamin larut lemak yaitu: vitamin A, vitamin D sebagai ergokalsiferol (vitamin D<sub>2</sub>) atau kolekalsiferol (vitamin D<sub>3</sub>), vitamin E, fitonadion

(vitamin K<sub>1</sub>), dan  $\beta$ -karoten. Dapat mengandung zat lain yang tertera di label dengan jumlah yang akurat.

Tablet memenuhi persyaratan yang dinyatakan untuk sediaan tablet dan persyaratan berikut:

Mengandung tidak kurang 80,0% dari jumlah yang tertera pada vitamin A (C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O) sebagai retinol atau ester retinol dalam bentuk retinil asetat (C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>) atau retinil palmitat (C<sub>36</sub>H<sub>46</sub>O<sub>2</sub>), vitamin D sebagai kolekalsiferol (C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O) atau ergokalsiferol (C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O), vitamin E sebagai  $\alpha$ -tokoferol (C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>),  $\alpha$ -tokoferil asetat (C<sub>31</sub>H<sub>52</sub>O<sub>3</sub>), atau  $\alpha$ -tokoferil suksinat (C<sub>33</sub>H<sub>54</sub>O<sub>5</sub>), fitonadion (C<sub>31</sub>H<sub>46</sub>O<sub>2</sub>), dan  $\beta$ -karoten (C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>).

#### Identifikasi

Lakukan seperti pada penetapan kadar.

**Waktu hancur.** Memenuhi persyaratan untuk waktu hancur.

**Keseragaman berat.** Memenuhi persyaratan.

**Catatan.** Dalam penetapan kadar berikut, dimana lebih dari satu metode penetapan kadar digunakan untuk zat aktif tunggal, persyaratan dipenuhi dengan salah satu metode yang telah ditentukan.

#### Penetapan kadar

##### Vitamin A (retinol)

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan seperti dalam penetapan kadar vitamin A, metoda 1 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).
- Lakukan seperti dalam penetapan kadar vitamin A, metoda 2 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).
- Lakukan seperti dalam penetapan kadar vitamin A, metoda 3 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).

##### Vitamin D (kolekalsiferol atau ergokalsiferol)

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan seperti dalam penetapan kadar kolekalsiferol atau ergokalsiferol (vitamin D), metoda 1 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).
- Lakukan seperti dalam penetapan kadar kolekalsiferol atau ergokalsiferol (vitamin D), metoda 2 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).
- Lakukan seperti dalam penetapan kadar kolekalsiferol atau ergokalsiferol (vitamin D), metoda 3 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).

##### Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol, $\alpha$ -tokoferil asetat, atau $\alpha$ -tokoferil suksinat)

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

- Lakukan seperti dalam penetapan kadar vitamin E, metoda 1 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).
- Lakukan seperti dalam penetapan kadar vitamin

- E, metoda 2 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).
3. Lakukan seperti dalam penetapan kadar vitamin E, metoda 3 (vitamin larut air dan lemak dengan mineral tablet).

**Vitamin K (fitonadion)**

Penetapan kadar dilakukan dengan salah satu metode berikut:

1. Lakukan seperti dalam penetapan kadar fitonadion, metoda 1 (vitamin larut air, lemak dan mineral tablet).
2. Lakukan seperti dalam penetapan kadar fitonadion, metoda 2 (vitamin larut air, lemak dan mineral tablet).

 **$\beta$ -Karoten**

Lakukan seperti dalam penetapan kadar  $\beta$ -karoten (vitamin larut air, lemak dan mineral tablet).

**Penyimpanan**

Dilindungi dari cahaya.

**Penandaan**

Harus tertera: 1) Komposisi, 2) Jenis sediaan, 3) Indikasi, 4) Waktu kadaluwarsa, 5) Kondisi penyimpanan.



## **LAMPIRAN**



## Elektroforesis

Elektroforesis adalah metode analisis fisika yang didasarkan atas perpindahan partikel bermuatan terlarut atau terdispersi, akibat pengaruh medan listrik. Mobilitas elektroforetik adalah laju perpindahan partikel bermuatan dalam cm per detik yang disebabkan karena pengaruh medan listrik 1 V/cm, dinyatakan dalam  $\text{cm}^2\text{V}^{-1}\text{S}^{-1}$

Mobilitas dapat ditetapkan hanya untuk elektrolit tertentu pada kondisi pengujian yang tepat. Mobilitas dipengaruhi berbagai faktor antara lain:

1. Karakteristik partikel bermuatan; sifat, ukuran, bentuk muatan listrik dan koefisien gesek;
2. Cairan tempat partikel bermuatan bergerak, pelarut, sifat dan kadar elektrolit penghantar, kekuatan ion, pH dan kekentalan larutan.

Arah gerak partikel bermuatan tergantung dalam sifat muatan listrik; partikel bermuatan akan menuju ke arah elektroda yang bermuatan berlawanan. Laju migrasi tergantung pada empat faktor utama, yaitu mobilitas partikel bermuatan, aliran elektroendosmotik, penguapan dan kekuatan medan listrik. Oleh karena itu analisa elektroforesis harus dilakukan pada kondisi pengujian yang benar-benar tertentu dan jika mungkin menggunakan standar.

### Elektroforesis Kertas

#### Peralatan

**Generator listrik.** Arus searah, tegangan tidak kurang dari 450 volt pada 150 mA, dilengkapi dengan voltmeter dan ampermeter.

**Bejana.** Persegi panjang ukuran panjang 50 cm, lebar 38 cm dan tebal 4,5 cm, terbuat dari kaca atau bahan lain yang sesuai. Pada kedua ujung bejana dipasang kabel listrik terisolasi yang menembus dinding bejana, ujung kabel dipasang alat penyambung untuk menempatkan elektroda platina dan ujung lain dihubungkan dengan generator. Bejana dilengkapi alat pengaman untuk memutus arus listrik jika tutup dibuka. Dua buah bak beruang dua, panjang 37 cm, lebar 5 cm dan tebal 2 cm dengan penyekat di tengahnya dimasukkan ke dalam bejana, masing-masing pada ujung bejana. Bak dapat juga dimasukkan ke dalam bejana, masing-masing pada ujung bejana. Bak dapat juga merupakan bagian dari bejana. Elektroda diletakkan memanjang pada luar ruangan luar bak terbenam seluruhnya dalam larutan dapar.

**Alat penyangga.** Terdiri dari dua lempeng kaca atau plastik iner, permukaan rata dan jarak kedua lempeng diatur sesampai difusi kapiler larutan dapat sekecil mungkin.

**Kertas elektroforesis.** Kertas filter Whatman 3 mm atau kertas filter lain yang sesuai, yang sebelumnya telah dicuci secara kromatografi. dengan campuran 2 bagian volume aseton dan 1 bagian volume air selama 16 jam. Setelah dikeringkan dipotong dengan ukuran panjang

30 cm, lebar 5 cm dan ditarik garis dasar melintang 13 cm dari salah satu ujungnya.

#### Prosedur

Isi kedua bak dengan larutan dapar yang tertera pada monografi. Letakkan potongan kertas yang telah disiapkan ke dalam kedua bak sesampai membentuk jembatan antara ruangan luar dan ruangan dalam kedua bak tersebut. Elektroda harus terbenam seluruhnya dalam larutan dapar yang terdapat tiap ruang luar bak. Totolkan masing-masing volume larutan yang tertera pada monografi pada garis dasar dengan jarak tidak kurang dari 2,5 cm, mulai dari 1 cm pinggir kertas. Biarkan pengering, tempatkan ujung kertas yang terdekat dengan garis dasar ke dalam ruang dalam bak yang di hubungkan dengan anode dan ujung lainnya ke dalam ruang dalam bak yang dihubungkan dengan katode. Basahi kertas dengan larutan dapar menggunakan kuas mulai dari ujung kertas ke arah garis dasar, kecuali bagian kertas yang mengandung zat uji. Tutup bejana, biarkan larutan dapar merembes melewati garis dasar. Seluruh instrumen terlindung dari cahaya. Hubungkan kabel dengan generator, alirkan listrik, atur tegangan sampai 20 volt/cm panjang kertas yang terletak di antara kedua bak, biarkan selama waktu yang ditetapkan atau sampai zat yang ditandai telah mencapai jarak yang ditentukan. Matikan generator, angkat kertas, keringkan di tempat gelap dengan aliran udara, amati dengan lampu ultraviolet pada panjang gelombang maksimum lebih kurang 254 nm. Jika menggunakan zat yang ditandai, pengujian hanya berlaku bila bercak tambahan larutan uji kurang dari intensitas bercak larutan standar, zat uji memenuhi syarat. Jika dikehendaki monografi, semprot merata kedua sisi kertas dengan pereaksi yang sama atas bercak yang dihasilkan.

### Elektroforesis Agar Gel

#### Peralatan

**Generator.** Listrik tegangan tinggi.

**Lempeng.** Logam berongga untuk mengalirkan cairan pendingin, permukaan atas dibuat sedemikian sampai memungkinkan lempeng kaca setebal 6 mm pembawa media padat melekat dengan baik. Pada setiap ujung lempeng ditempatkan sepasang bak berisi media cair. Seluruh instrumen berada dalam kotak tertutup, tetapi ada aliran udara untuk mencegah kondensasi uap atau mengeringnya lapisan media padat.

#### Pereaksi

**Medium agar pepton.** Pepton 6 g, kasiton 4 g, ekstrak ragi 3 g, kaldu 1,5 g, glukosa 1 g, agar 15 g, air secukupnya sampai 1000 ml. Sterilkan. Atur pH 6,5 dengan asam hidroklorida 0,1 N segera sebelum digunakan.

**Medium cair pepton.** Buat menurut cara yang tertera pada medium agar pepton tanpa agar.

**Dapar fosfat pH 6,5.** Larutkan 1,76 g natrium hidrogen fosfat dan 2,43 g natrium dihidrogen fosfat dalam air secukupnya sampai 1000 ml.

**Inokulum organisme.** Biakan *Bacillus subtilis* selama 7 hari pada suhu 37°–39°C pada permukaan medium agar pepton yang telah ditambah mangan sulfat 0,001%. Cuci medium dengan air steril, encerkan cairan dengan air steril sampai mengandung 10–100 juta spora/ml. Untuk persediaan, simpan pada suhu tidak lebih dari 4°C.

### Prosedur

Letakkan bingkai logam atau plastik yang sesuai di atas lempeng kaca, patri sisi bagian dalam lempeng dengan sedikit medium cair agar pepton, letakkan lempeng pada dasar rata tuangkan medium agar pepton yang sebelumnya telah diinokulasi dengan 1% v/v inokulum *B. subtilis* secukupnya sampai 1,6 mm. Biarkan medium membeku, angkat bingkai lubang medium dengan diameter lebih kurang 1 mm sebanyak 32 lubang sampai larutan dapat diatur dalam pola kuadrat Latin atau dalam pola blok rawu. Pipet masing-masing 5 µl 4 larutan yang ditetapkan dalam monografi ke dalam lubang yang sesuai dengan pola yang dipilih. Pindahkan lempeng ke dalam alat elektroforesis dan usahakan supaya lempeng mendatar. Isi tiap bak dengan sejumlah volume sama medium pepton cair, hubungkan isi masing-masing ruang dalam bak dengan medium pepton pada lempeng menggunakan sumbu terbuat dari 2 helai kain jerap tipis; bagian akhir sumbu sepanjang 2 cm harus melewati medium padat, tekan hati-hati sampai menyentuh. Tutup wadah, alirkan listrik dengan tegangan 15 volt sampai 20 volt/cm panjang lapisan medium agar pepton, sebaliknya menggunakan stabilisator.

Selama proses elektroforesis, alirkan air atau cairan pendingin lain yang sesuai melewati lempeng logam untuk menjaga supaya suhu tidak lebih dari 15°C. Dalam udara kelembaban tinggi, dapat terjadi kondensasi pada permukaan lapisan medium agar pepton, jika aliran udara dalam wadah pendingin tidak diperhatikan. Setelah terjadi pemisahan zat uji, matikan generator, pindahkan lempeng kaca tutup, inkubasi selama 18 jam pada suhu antara 30°C dan 35°C sambil dijaga agar lapisan medium tidak menjadi kering. Ukur diameter hambatan larutan standar dan daerah hambatan larutan uji. Hitung kadar zat uji.

## Fluorometri

Intensitas sinar yang dipancarkan oleh suatu larutan yang berfluoresensi dalam batas tertentu merupakan fungsi dari kadar zat yang dilarutkan. Oleh karena itu dapat digunakan untuk penetapan kadar. Pada umumnya sinar yang dipancarkan oleh larutan berfluoresensi mempunyai intensitas maksimum pada panjang gelombang yang 20 nm sampai 30 nm lebih besar dari panjang gelombang pita penyerapan sinar yang membangkitkannya.

Pada fluorometri larutan zat disinari dengan sinar yang panjang gelombangnya di sekitar panjang gelombang penyerapan maksimum yang berasal

dari lampu raksa atau, lampu pijar yang telah disekat dengan filter. Intensitas fluoresensi diukur atau dibandingkan dengan intensitas fluoresensi larutan standar. Sinar fluoresensi dibebaskan dari sinar hamburan dengan melewati sinar melalui filter atau monokromator. Cara pengukuran pada dasarnya sama dengan cara pada spektrofotometri. Karena zat organik yang berfluoresensi mungkin terurai secara fotokimia, penyinaran harus dilakukan sesingkat mungkin.

Oleh karena daerah di mana intensitas fluoresensi sebanding dengan kadar umumnya sangat sempit, maka perbandingan  $(c-d)/(a-b)$  tidak boleh kurang dari 0,40 dan tidak boleh lebih dari 2,50; a adalah pembacaan intensitas fluoresensi larutan standar, b adalah pembacaan intensitas fluoresensi larutan blanko untuk zat standar, c adalah pembacaan intensitas fluoresensi larutan uji dan d adalah pembacaan intensitas fluoresensi larutan blanko untuk zat uji. Sebagai zat standar dapat digunakan zat yang sama dengan zat uji dalam keadaan murni atau zat murni lain yang mempunyai pita penyerapan dan fluoresensi yang sama dengan zat uji. Misalnya larutan kinina dalam asam sulfat sering digunakan sebagai zat standar untuk fluoresensi biru dan larutan natrium fluoreoseina untuk zat yang berfluoresensi hijau.

## Fotometri Nyala

Cara berikut digunakan untuk pemeriksaan fotometri nyala baik yang berdasarkan serapan atom maupun spektrum emisi, sesuai dengan yang tertera pada monografi.

### Pereaksi

**Air.** Untuk penetapan kalium, kalsium, natrium dan seng gunakan air yang sebelumnya telah dilewatkan melalui penukar ion Amberlite MB I atau penukar ion lain yang sesuai.

**Larutan kalium.** Larutkan 1,1440 g kalium klorida yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu 130°C sampai bobot tetap, dalam air sampai batas volume 1000,0 ml; larutan mengandung K 600 µg/ml.

**Larutan kalsium.** Larutkan 1,001 g kalsium karbonat yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu 105°C sampai bobot tetap, dalam 25 ml asam hidroklorida 1 M, dididihkan sampai karbondioksida hilang, tambahkan air bebas karbondioksida secukupnya sampai 1000,0 ml; larutan mengandung C 400 µg/ml.

**Larutan natrium.** Larutkan 508,40 natrium klorida yang selumnya telah dikeringkan pada suhu 130°C sampai bobot tetap, dalam air sampai batas volume 1000,0 ml; larutan mengandung Na 200 µg/ml.

**Larutan seng.** Larutkan 2,5 g seng butir dalam 20 ml asam klorida 5 N, tambahkan air secukupnya sampai 500,0 ml; larutan mengandung Zn 5 mg/ml.

### Prosedur

Kecuali dinyatakan lain, gunakan salah satu cara berikut ini:



**Prosedur I**

Buat tidak kurang dari 3 larutan standar yang mengandung unsur yang diuji dalam batas kadar yang sesuai dengan alat yang digunakan. Tiap pereaksi yang digunakan dalam menyiapkan larutan uji harus ditambahkan dalam kadar yang sama ke dalam larutan standar. Siapkan alat untuk pengamatan serapan atom atau spektrum emisi sesuai dengan petunjuk. Pilih filter yang sesuai atau atur monokromator pada panjang gelombang seperti yang tertera pada monografi.

Untuk pengukuran emisi, semprotkan air ke dalam nyala, atur galvanometer sampai angka nol, semprotkan larutan standar yang paling pekat ke dalam nyala dan atur kepekaan sedemikian sampai galvanometer menunjukkan penyimpangan skala penuh; semprotkan air lagi ke dalam nyala, atur kembali sampai galvanometer menunjukkan angka nol.

Untuk pengukuran serapan, semprotkan air ke dalam nyala, atur sampai galvanometer menunjukkan penyimpangan penuh pada instrumen yang telah ditera terhadap transmisi; untuk instrumen tipe ini tidak perlu dilakukan pengaturan selanjutnya. Untuk instrumen yang ditera terhadap serapan gunakan petunjuk pabrik. Semprotkan masing-masing larutan standar tiga kali ke dalam nyala, catat galvanometer yang telah mantap dan cuci dengan air setiap kali setelah penyemprotan. Buat kurva kalibrasi dengan menggambarkan rata-rata pembacaan masing-masing larutan standar terhadap kadar. Buat larutan uji seperti tertera pada monografi dan atur kadar, jika perlu sedemikian rupa sesampai dalam batas kadar yang sesuai dengan alat yang digunakan, semprot larutan ke dalam nyala, catat penyimpangan galvanometer dan cuci alat dengan air setiap kali setelah penyemprotan. Dengan menggunakan rata-rata pembacaan tetapkan kadar unsur dari kurva kalibrasi. Ulangi pengujian menggunakan larutan standar dan larutan uji dengan kadar yang sama untuk meyakinkan hasil pengukuran.

**Prosedur II**

Ke dalam masing-masing tidak kurang dari 3 labu terukur kapasitas sama, masukkan volume sama larutan yang dibuat menurut cara yang tertera pada masing-masing monografi. Kecuali ke dalam 1 labu, tambahkan pada masing-masing labu sejumlah larutan standar yang diukur saksama, sampai diperoleh seri larutan dengan kadar teratur menaik. Pada semua labu masing-masing tambahkan air secukupnya sampai volume labu. Atur instrumen menurut cara yang tertera pada prosedur I. Amati masing-masing larutan 3 kali, gambarkan kurva yang menyatakan hubungan antara harga rata-rata pembacaan terhadap kadar; titik potong antara sumbu pada kertas grafik menunjukkan pembacaan nol pada galvanometer dan kadar larutan tidak mengalami penambahan. Tarik garis lurus yang menghubungkan titik pada grafik sampai mernotong perpanjangan sumbu kadar. Jarak titik ini dan titik potong sumbu menyatakan kadar unsur yang terdapat dalam larutan uji.

## Kejernihan dan Tingkat Opalesensi Cairan tak Berwarna

### Kejernihan dan Opalesensi

**Peralatan**

Gunakan tabung Nessler seperti yang tertera pada uji batas logam berat.

**Pereaksi**

**Larutan natrium klorida 0,2 M.** Larutkan 11,69 g natrium klorida, encerkan sampai batas volume 1000,0 ml

**Larutan klorida I.** Encerkan 1,0 ml larutan natrium klorida 0,2 M dengan air sampai batas volume 100,0 ml; setiap ml setara 70,91 µg Cl.

**Larutan klorida II.** Encerkan 20,0 ml larutan klorida I dengan air sampai batas volume 100,0 ml; setiap ml setara 14,182 µg Cl.

**Larutan klorida III.** Encerkan 1,0 ml larutan klorida II dengan air sampai batas volume 100,0 ml, setiap ml setara dengan 0,7091 µg Cl.

Larutan standar buat segar larutan standar seperti tertera pada daftar.

	A (ml)	B (ml)	C (ml)	D (ml)
Larutan klorida III	0,25	3,75	–	–
Larutan klorida II	–	–	0,75	1,25
Larutan asam nitrat 12,6% b/v	5,0	5,0	5,0	5,0
Air	3,75	0,25	3,25	2,75
Larutan perak nitrat 1,7% b/v	1,0	1,0	1,0	1,0

**Prosedur**

Masukkan masing-masing 10,0 ml larutan uji dan 10,0 ml larutan standar ke dalam tabung Nessler, biarkan selama 5 menit, bandingkan.

Pernyataan cairan dikatakan jernih, jika kejernihannya sama dengan air atau pelarut yang digunakan.

- Cairan dikatakan tidak opalesen jika opalesensinya tidak lebih kuat dari larutan A
- Cairan dikatakan opalesen lemah jika opalesensinya lebih kuat dari larutan A tetapi tidak lebih kuat dari B.
- Cairan dikatakan opalesen jika opalesensinya lebih kuat dari B tetapi tidak lebih kuat dari C.
- Cairan dikatakan opalesen kuat jika opalesensinya lebih kuat dari C tetapi tidak lebih kuat dari D

### Tingkat Warna Cairan

Pemeriksaan tingkat warna cairan berikut ini dimaksudkan untuk cairan berwarna coklat, kuning dan merah. Kecuali dinyatakan lain pemeriksaan dilakukan menurut prosedur I.

Cairan dinyatakan tidak berwarna jika warna cairan tampak seperti air.

**Peralatan**

**Untuk prosedur I.** Digunakan tabung standar warna diameter 12 mm, terbuat dari kaca netral dan transparan.

**Untuk prosedur II.** Digunakan tabung standar warna diameter 16 mm, terbuat dari kaca netral dan transparan.

**Pereaksi**

**Larutan primer kuning.** Larutkan dan encerkan 46,0 g besi (III) klorida dalam campuran 25 ml asam hidroklorida dan 975 ml air sampai batas volume 1000,0 ml. Encerkan kembali dengan campuran yang sama sampai diperoleh konsentrasi 45,0 mg/ml ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) yang ditetapkan sebagai berikut: Masukkan ke dalam labu 200 ml bersumbat kaca 10,0 ml larutan, 15 ml air, 5 ml asam hidroklorida dan 4 g kalium iodida, tutup, biarkan di tempat gelap selama 15 menit. Tambah 100 ml air, titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 M menggunakan indikator 10 tetes larutan kanji. Setiap ml natrium tiosulfat 0,1 M setara 27,03 mg  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ .

**Larutan primer merah.** Larutkan dan encerkan 60,0 g kobalt klorida dalam lebih kurang 900 ml campuran 25 ml asam hidroklorida dan 975 ml air sampai batas volume 1000,0 ml. Encerkan kembali sampai diperoleh konsentrasi 59,5 mg/ml ( $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) yang ditetapkan sebagai berikut: Masukkan ke dalam labu bersumbat kaca 5,0 ml larutan, 5 ml hidrogen peroksida encer dan 10 ml larutan natrium hidroksida 30% b/v. Didihkan hati-hati selama 10 menit, biarkan dingin. Tambah 60 ml asam sulfat encer dan 2 g kalium iodida, tutup, larutkan endapan dengan pengocokan hati-hati. Titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 N menggunakan indikator 10 tetes larutan kanji sampai warna merah jambu. Setiap ml natrium tiosulfat 0,1 M setara dengan 23,79 mg  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ .

**Larutan primer biru.** Larutkan dan encerkan 63 g tembaga (II) sulfat dalam lebih kurang 900 ml campuran 25 ml asam hidroklorida dan 975 ml air sampai batas volume 1000,0 ml. Encerkan kembali sampai diperoleh konsentrasi 62,4 mg/ml ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) yang ditetapkan sebagai berikut: Pada 10,0 ml larutan, tambah 50 ml air, 12 ml asam asetat encer dan 3 g kalium iodida. Titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 M menggunakan indikator kanji sampai warna coklat agak pucat. Setiap ml natrium tiosulfat 0,1 M setara 24,97 mg  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

**Larutan standar.** Buat lima larutan standar menggunakan 3 larutan primer berikut:

Larutan baku	Larutan primer			HCl 1% b/v (ml)
	Kuning (ml)	Merah (ml)	Biru (ml)	
C (coklat)	3,0	3,0	2A	1,6
KC (kuning kecoklatan)	2A	1'0	0A	6,2
K (kuning)	2,4	0,6	0'	7,0
KH (kuning kehijauan)	9,6	0,2	0,2	0
M (merah)	0	2,0	0	7,0

**Larutan standar untuk prosedur I** Buat larutan g seperti yang tertera pada daftar berikut, menggunakan 5 larutan standar:

Larutan standar C		
Larutan standar	Larutan standar C (ml)	HCl 1% b/v (ml)
C1	1,50	0,50
C2	1,00	1,00
C3	0,75	1,25
C4	0,50	1,50
C5	0,25	1,75
C6,	0,10	1,90

Larutan standar KC		
Larutan standar	Larutan standar KC (ml)	HCl 1% b/v (ml)
KCI	2,00	0,00
KC2	1,50	0,50
KC3	0,75	1,25
KC4	0,50	1,50
KC5	0,25	1,75
KC6	0,10	1,90

Larutan standar K		
Larutan standar	Larutan standar K (ml)	HCl 1% b/v (ml)
K1	2,00	0,00
K 2	1,50	0,50
K 3	1,00	1,00
K 4	0,50	1,50
K 5	0,25	1,75
K6	0,10	1,90

Larutan standar KH		
Larutan standar	Larutan standar KH (ml)	HCl 1% b/v (ml)
KH1	0,50	1,50
KH 2	0,30	1,70
KH3	0,17	1,83
KH 4	0,10	1,90
KH 5	0,06	1,94
KH6	0,03	1,97

Larutan standar M		
Larutan standar	Larutan standar M (ml)	HCl 1% b/v (ml)
M1	2,00	0,00
M 2	1,50	0,50
M 3	1,00	1,00
M4	0,75	1,25
M 5	0,50	1,50
M 6	0,25	1,75

**Penyiapan.** Simpan larutan dalam tabung tidak berwarna tertutup, diameter dalam 12 ml, terlindung dari cahaya.

**Larutan standar untuk prosedur II.** Gunakan 10 ml larutan standar seperti yang tertera pada prosedur I.

#### Prosedur I

Bandingkan warna 2,0 ml cairan uji terhadap warna 2,0 ml air atau larutan standar g seperti tertera pada monografi. Bandingkan warna dalam cahaya baur dengan arah horisontal terhadap latar belakang putih.

#### Prosedur II

Bandingkan warna 10,0 ml uji terhadap warna 10,0 ml air atau larutan pembanding seperti tertera pada monografi. Amati kolom cairan ke bawah sumbu vertikal tabung dalam cahaya baur terhadap latar belakang putih

## Kromatografi

Kromatografi yang diuraikan berikut adalah cara pemisahan zat khasiat dan zat lain yang ada dalam sediaan dengan jalan penyarian berfraksi, penyerapan, atau penukaran ion pada zat berpori, menggunakan cairan atau gas yang mengalir. Zat yang diperoleh dapat digunakan untuk uji identifikasi atau penetapan kadar. Kromatografi yang sering digunakan adalah kromatografi kolom, kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, dan kromatografi gas. Sebagai zat penyerap selain kertas, digunakan juga zat penyerap berpori misalnya aluminium oksida yang diaktifkan, asam silikat atau silika gel, kieselgur dan harsa sintetik. Zat tersebut dapat digunakan sebagai penyerap tunggal atau campuran atau sebagai penyangga zat lain. Kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis umumnya lebih berguna untuk uji identifikasi karena cara ini khas dan mudah dilakukan untuk zat dengan jumlah sedikit. Kromatografi gas memerlukan alat yang lebih rumit, tetapi cara tersebut sangat berguna untuk uji identifikasi dan penetapan kadar.

### Kromatografi Jerap

Zat penjerap (misalnya aluminium oksida yang telah diaktifkan, silika gel, kieselgur terkalsinas, dan kieselgur kromatografi murni) dalam keadaan kering atau sebagai bubuk, dimampatkan ke dalam tabung kaca atau tabung kuwarsa dengan ukuran tertentu dan mempunyai lubang pengalir ke luar dengan ukuran tertentu. Sediaan yang diuji yang dilarutkan dalam sedikit pelarut ditambahkan pada puncak kolom dan dibiarkan mengalir ke dalam zat penjerap, zat khasiat diserap dari larutan secara sempurna oleh bahan penjerap berupa pita sempit pada puncak kolom. Dengan mengalirkan pelarut lebih lanjut, dengan atau tanpa tekanan udara, masing-masing zat bergerak turun dengan kecepatan khas sampai terjadi pemisahan dalam kolom yang disebut kromatogram. Kecepatan bergerak zat dipengaruhi beberapa faktor

misalnya daya serap zat penjerap, sifat pelarut dan suhu dari sistem kromatografi. Jika yang terpisah berwarna atau berfluoresensi dengan sinar ultra violet, kolom penjerap dapat dikeluarkan dan dengan cara memotong melintang, lapisan yang diperlukan dapat dipisahkan. Zat disari dari tiap lapisan dengan pelarut yang sesuai. Jika zat yang terpisah tidak berwarna, letak lapisan zat dapat diketahui dengan cara memberi warna atau menyemprot kolom yang telah dikeluarkan dengan pereaksi yang dapat membentuk warna. Zat radioaktif dapat diketahui tempatnya dengan menggunakan pencacah Geiger Muller atau alat yang sejenis. Pemisahan lebih banyak dilakukan adalah pemisahan dengan mengalirkan pelarut melalui kolom sesampai zat berkhasiat yang dikehendaki ke luar dalam eluat. Cara ini disebut kromatografi mengalir. Kadar zat di dalam eluat dapat ditetapkan dengan cara titrasi, spektrofotometri atau pelarut dapat diuapkan sampai diperoleh zat dalam keadaan hampir murni. Jika dikehendaki, pemisahan beberapa zat khasiat dapat dilakukan dengan mengalirkan selanjutnya pelarut yang sama atau pelarut lain yang mempunyai daya elusi yang lebih kuat. Kadang kadang digunakan modifikasi cara di atas yaitu dengan menambahkan campuran pada kolom. Sediaan dalam bentuk padat misalnya, serbuk tablet, tanpa pemisahan dari bahan tambahan dicampur dengan sebagian zat penjerap dan ditambahkan pada puncak kolom. Aliran pelarut menggerakkan zat berkhasiat turun pada kolom dengan cara seperti yang telah diterangkan di atas.

### Kromatografi Pembagian

Pada kromatografi pembagian, zat yang harus dipisahkan terbagi antara dua cairan yang tidak dapat bercampur. Salah satu cairan, yaitu fase diam biasanya diserap oleh zat penjerap padat, karena itu memberikan daerah permukaan yang sangat luas kepada pelarut yang mengalir atau fase bergerak, dan menghasilkan pemisahan yang baik, tidak dapat dicapai dengan cara penyarian cairan-cairan yang biasa. Kromatografi pembagian dilakukan dengan cara mirip dengan kromatografi penjerapan, yaitu campuran yang telah dilarutkan dalam sedikit pelarut, ditambahkan pada puncak kolom dan elusi dilakukan dengan pelarut yang mengalir. Umumnya sebelum digunakan, fase bergerak dijenuhkan dahulu dengan fase diam. Dalam hal tertentu lebih baik zat yang diuji yang telah dilarutkan dalam fase diam ditambahkan pada sedikit zat penyerap, kemudian campuran ini dipindahkan pada puncak kolom.

### Kromatografi Kertas

Pada kromatografi kertas sebagai penjerap digunakan sehelai kertas dengan susunan serabut dan tebal yang sesuai. Pemisahan dapat dilakukan menggunakan pelarut tunggal dengan proses yang analog dengan kromatografi penjerapan atau menggunakan dua pelarut yang tidak dapat bercampur dengan proses yang analog dengan kromatografi pembagian. Pada kromatografi pembagian, fase bergerak merambat

perlahan-lahan melalui fase diam yang membungkus serabut kertas atau yang membentuk kompleks dengan serabut kertas. Perbandingan jarak perambatan suatu zat dengan jarak perambatan fase bergerak dihitung dari titik penotolan larutan zat, dinyatakan sebagai  $R_f$  zat tersebut. Perbandingan jarak perambatan suatu zat dengan jarak perambatan standar kimia dinyatakan sebagai  $R_f$

### Penggunaan zat standar pada uji identifikasi

Harga  $R_f$ , mutlak sukar ditetapkan, karena harga  $R_f$  yang diperoleh tergantung dari kondisi pengujian. Harga  $R_f$  tersebut sangat berguna untuk identifikasi pendahuluan senyawa kimia. Identifikasi pemastian dilakukan dengan menggunakan zat standar kimia. Dalam hal ini dibuat 3 kromatogram pada sehelai kertas; pertama dari zat yang diuji, kedua dari zat standar kimia dan ketiga dari campuran zat yang diuji dengan zat standar kimia dengan jumlah yang lebih kurang sama. Untuk masing-masing kromatogram digunakan sejumlah zat yang bobotnya lebih kurang sama. Jika zat yang diuji sama dengan zat standar kimia, maka ketiga kromatogram memberikan warna dan mempunyai harga  $R_f$ , yang sama, dengan kromatogram campuran memberikan bercak tunggal ( $R_f = 1,0$ ). Untuk uji identifikasi perlu dilakukan dengan paling sedikit dua pelarut yang berbeda.

### Letak bercak

Letak bercak yang diperoleh dari zat yang dikromatografi dapat ditetapkan dengan cara berikut:

1. Pengamatan langsung, jika zat tampak dengan cahaya biasa atau dengan sinar ultraviolet.
2. Pengamatan dengan cahaya biasa atau dengan sinar ultraviolet setelah kertas disemprot dengan pereaksi yang dapat membuat bercak tersebut tampak.
3. Menggunakan pencacah Geiger Muller atau teknik otoradiografi, jika ada zat radioaktif.
4. Menempatkan pita atau potongan kertas pada medium pembiakan yang telah ditanami, untuk melihat hasil stimulasi atau hambatan dari pertumbuhan bakteri.

## Kromatografi Kertas Menurun

Pemisahan zat dengan cara kromatografi kertas menurun dilakukan dengan membiarkan fase bergerak merambat turun pada kertas kromatografi.

### Peralatan

**Bejana kromatografi.** Bejana tertutup kedap, yang mempunyai lubang untuk penambalan pelarut atau untuk pengurangan tekanan dalam. Bejana sebaiknya dari kaca, baja tahan karat atau porselen dan dibuat sampai dapat dilakukan pengamatan selama kromatografi tanpa membuka bejana. Silinder kaca yang tinggi dapat digunakan jika dibuat kedap dengan tutup yang sesuai.

**Rak tahanan korosi.** Tinggi rak 5 cm kurang dari tinggi bejana bagian dalam rak digunakan sebagai penyangga bak pelarut dan batang kaca antisifon.

**Bak pelarut.** Satu atau lebih bak pelarut terbuat dari kaca yang dapat memuat pelarut lebih besar dari yang diperlukan untuk satu kali pemisah. Panjang bak pelarut harus lebih besar dari lebar kertas kromatografi.

**Batang kaca antisifon.** Batang kaca antisifon disangga oleh rak, letaknya di luar sejajar dengan tepi bak pelarut dan sedikit lebih tinggi. Batang tersebut digunakan sebagai penahan kertas kromatografi.

**Kertas kromatografi.** Digunakan kertas filter khusus yang panjangnya kira-kira sama dengan tinggi bejana. Lebar kertas tidak kurang dari 2,5 cm tetapi tidak lebih lebar dari panjang bak pelarut. Buat garis tipis dengan pensil melintang pada kertas dengan jarak tertentu dari salah satu ujung kertas, sampai jika kertas digantung pada batang kaca antisifon dengan ujung atas di dalam bak pelarut dan ujung lain tergantung bebas, garis tersebut terletak beberapa cm di bawah batang kaca antisifon. Usahakan agar kertas tidak terkena kotoran.

### Prosedur

#### Prosedur I

Zat yang diuji dilarutkan dalam pelarut yang sesuai. Sejumlah volume larutan zat yang umumnya mengandung 1–20  $\mu\text{g}$ , ditotolkan pada titik-titik tertentu pada garis pensil, diameter bercak 6 mm sampai 10 mm dengan jarak tidak kurang dari 3 cm. Jika jumlah larutan yang ditotolkan akan menghasilkan bercak dengan diameter lebih dari 10 mm, totolkan larutan sedikit demi sedikit pada titik yang sama, tiap kali biarkan mengering dahulu sebelum ditotolkan lagi. Kertas tersebut digantung dalam bejana dengan menggunakan batang kaca antisifon dan batang kaca tebal lain yang dapat menahan ujung atas kertas di dalam bak pelarut. Dasar bejana digenangi dengan kedua fase dengan ditetapkan dalam sistem pelarut. Bagian kertas yang tergantung di bawah batang kaca antisifon harus tergantung bebas di dalam bejana tanpa menyinggung rak, dinding bejana atau cairan yang terdapat dalam dasar bejana. Bejana ditutup sesempai terjadi keseimbangan (kejenuhan) dari bejana dan kertas. Jika perlu tekanan dalam yang berlebihan dikurangi. Agar tercapai keseimbangan untuk bejana yang berukuran besar perlu dilakukan selama 1 malam. Keseimbangan dapat dipercepat dengan cara melapis dinding bagian dalam bejana dengan kertas filter, sampai pelarut menguap dari daerah yang luas dan diberikan oleh kertas. Sejumlah fase bergerak dengan volume berlebihan yang diperlukan untuk kromatografi dijenuhkan dengan fase diam dengan cara pengocokan. Setelah penjenuhan bejana, fase bergerak dimasukkan ke dalam bak pelarut melalui lubang. Lubang ditutup dan fase bergerak dibiarkan merambat turun pada kertas sejauh yang dikehendaki. Pada waktu membuka tutup bejana dan mengangkat kertas, usahakan agar pelarut tidak merambat lagi. Batas perambatan pelarut segera ditandai dan kertas dikeringkan. Kromatogram diamati dan diukur langsung atau setelah disemprot dengan pereaksi yang sesuai.

#### Prosedur II

Lakukan menurut cara yang tertera pada prosedur I

tetapi bejana dijenuhkan dengan fase gerak dan kertas telah dicelupkan dalam fase diam.

### Kromatografi Kertas Menaik

Pada kromatografi kertas menaik, ujung bawah kertas dicelupkan ke dalam fase bergerak sampai fase bergerak merambat naik pada kertas.

#### Peralatan

Alat yang digunakan sama dengan alat yang digunakan pada kromatografi kertas menurun.

#### Prosedur

Larutan zat yang diperiksa ditotolkan pada kertas dengan cara seperti yang tertera pada kromatografi kertas menurun. Sejumlah volume campuran pelarut dari kedua fase dituangkan ke dalam bejana. Bejana pelarut kosong ditempatkan pada dasar bejana dan kertas digantung sesampai bagian ujung kertas yang telah ditotol dengan larutan yang di uji, tergantung bebas di dalam bak pelarut kosong. Bak ditutup, dan dijenuhkan menurut cara yang tertera pada kromatografi kertas menurun. Kemudian pelarut dengan jumlah berlebihan dari yang diperlukan untuk membasahi kertas seluruhnya dituangkan ke dalam bak pelarut melalui lubang. Bejana kemudian ditutup lagi. Jika batas perambatan pelarut telah mencapai ketinggian yang dikehendaki, bejana dibuka, kertas dikeluarkan, batas perambatan pelarut segera ditandai dan kertas dikeringkan. Silinder kaca kecil dapat digunakan tanpa bak pelarut, sampai hanya fase bergerak yang terdapat pada dasar bejana. Pada waktu penjenuhan, kertas tergantung dengan ujung bawah tepat di atas pelarut dan kromatografi dimulai dengan menurunkan kertas sampai tercelup dalam pelarut.

### Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis digunakan untuk pemisahan senyawa secara cepat, dengan menggunakan zat penjerap berupa serbuk halus yang dilapiskan serba rata pada lempeng kaca. Lempeng yang dilapis, dapat dianggap sebagai "kolom kromatografi terbuka" dan pemisahan dapat didasarkan pada penjerapan, pembagian atau gabungannya, tergantung dari jenis zat penjerap dan cara pembuatan lapisan zat penjerap dan jenis pelarut.

Kromatografi lapis tipis pada penjerap penukar ion dapat digunakan untuk pemisahan senyawa polar. Harga  $R_f$ , yang diperoleh pada kromatografi lapis tipis tidak tetap, jika dibandingkan dengan yang diperoleh pada kromatografi kertas. Karena itu pada lempeng yang sama disamping kromatogram zat yang diuji perlu dibuat kromatogram zat standar, lebih baik dengan kadar yang berbeda-beda. Perkiraan identifikasi diperoleh dengan pengamatan 2 bercak dengan harga  $R_f$ , dan ukuran yang hampir sama. Perbandingan ukuran bercak secara visual atau densitometri dapat digunakan untuk memperkirakan kadar. Penetapan kadar yang lebih teliti dapat dilakukan dengan cara mengambil bercak dengan hati-hati dari lempeng,

kemudian disari dengan pelarut yang sesuai dan diukur dengan cara spektrofotometri.

Pada kromatografi lapis tipis dua dimensi, lempeng yang telah dieluasi diputar  $90^\circ\text{C}$  dan dieluasi lagi, umumnya menggunakan bejana lain yang dijenuhkan dengan sistem pelarut yang berbeda.

#### Peralatan

**Lempeng.** Yang tersedia secara komersial sesuai dengan peruntukannya sebagaimana dinyatakan dalam monografi.

**Bejana kromatografi.** Bejana kromatografi umumnya dapat memuat 2 lempeng kaca dan dapat tertutup rapat. Ke dalam bejana dapat dimasukkan sebuah rak penyangga terbuat dari baja tahan karat yang dapat memuat 2 lempeng kaca adalah menyebelah. Bagian atas bejana terasah halus dan rata dan dapat ditutup rapat dengan tutup kaca dengan pertolongan lemak penutup.

**Sablon.** Sablon umumnya dibuat dari plastik, digunakan untuk membantu memberi tanda pada lempeng, misalnya untuk memberi tanda pada tempat penotolan dengan jarak tertentu dan untuk membantu memberi tanda lain pada lempeng.

**Pipet mikro.** Pipet mikro berskala  $10\ \mu\text{l}$  untuk memindahkan cairan. Jumlah larutan zat diperiksa dan larutan standar yang harus ditotolkan, tertera pada masing-masing monografi.

**Alat penyemprot pereaksi.** Alat penyemprot tahan terhadap pereaksi dan dapat menyemprotkan pereaksi dalam bentuk butir-butir halus.

**Pelarut.** Larutan standar, larutan zat yang diperiksa dan pereaksi tertera pada masing-masing monografi.

**Lampu ultraviolet.** Lampu ultraviolet yang sesuai untuk pengamatan dengan panjang gelombang pendek ( $254\ \text{nm}$ ) dan dengan panjang gelombang panjang ( $336\ \text{nm}$ ).

#### Prosedur

Bersihkan lempeng kaca dengan cara mencelup ke dalam asam pencuci, bilas dengan air secukupnya sampai air mengalir dari lempeng kaca tanpa meninggalkan bercak air atau minyak, keringkan dengan lap bersih. Pada waktu melapiskan zat penjerap, lempeng harus bebas dari serat atau debu. Atur lempeng kaca di atas baki lempeng, letakkan lempeng tepi berukuran  $5\ \text{cm} \times 20\ \text{cm}$  pada ujung dan pangkal baki dan usahakan agar pada waktu melapisi semua lempeng tidak ada yang tergeser. Letakkan alat pembuat lapisan pada ujung baki. Kecuali dinyatakan lain, campur 1 bagian zat penjerap dengan 2 bagian volume air, kocok kuat dalam labu kimia bersumbat kaca selama 30 detik. Tuangkan bubuk tersebut ke dalam alat pembuat lapisan. Umumnya  $30\ \text{g}$  zat penjerap dan  $60\ \text{ml}$  air cukup untuk 5 lempeng berukuran  $20\ \text{cm} \times 20\ \text{cm}$ . Pekerjaan melapisi ini harus selesai dalam waktu 2 menit sejak penambahan air, karena setelah 2 menit campuran yang menggunakan perekat mulai menjadi keras. Geser hati-hati alat pembuat lapisan di atas

lempeng kaca ke arah sisi pendek baki yang berbingkai. Jika telah sampai pada lempeng tepi terakhir, angkat alat pembuat lapisan. Bilas segera alat pembuat lapisan. Biarkan lempeng selama 5 menit kemudian pindahkan lempeng pada rak penyimpanan dengan lapisan menghadap ke atas, keringkan pada suhu 105°C selama 30 menit. Setelah lempeng kering, biarkan dingin pada suhu kamar dan amati kesebaran pembagian dan cahaya yang dipantulkan akan menunjukkan kesebaran susunan. Simpan lempeng dalam desikator yang sesuai.

Kecuali dinyatakan lain pada masing-masing monografi, tempatkan pada 2 sisi bejana kromatografi, 2 helai kertas saring, tinggi 18 cm, lebar sama dengan panjang bejana. Masukkan 100 ml pelarut ke dalam bejana kromatografi sampai tinggi pelarut 0,5–1 cm, sumbat rapat, biarkan sistem mencapai keseimbangan, kertas saring harus basah seluruhnya. Seluruh sisi bejana dapat juga dilapisi dengan kertas saring. Pada dasar bejana kertas saring harus tercelup ke dalam pelarut. Totolkan larutan zat yang diperiksa dan larutan standar, menurut cara yang tertera pada masing-masing monograf dengan jarak kira-kira 1,5 cm dan kira-kira 2 cm dari tepi bawah lempeng, biarkan kering. Tepi bawah lempeng adalah bagian lempeng yang terdahulu didahului oleh alat pembuat lapisan pada waktu melapiskan zat penjerap. Sablon menentukan titik tempat penotolan dan jarak yang harus dilalui pelarut. Tempatkan lempeng pada rak penyangga, sampai tempat penetasan terletak di sebelah bawah, masukkan rak penyangga ke dalam bejana. Pelarut yang ada di dalam bejana harus mencapai tepi bawah lapisan penjerap, tempat penetasan tidak boleh terendam. Sumbat rapat dengan pertolongan lemak penutup, biarkan sampai pelarut merambat 10–15 cm di atas titik penotolan. Umumnya berlangsung selama kira-kira 15 menit sampai 1 jam; keluarkan lempeng. Keringkan di udara, amati bercak mula-mula dengan sinar ultraviolet gelombang pendek (254 nm) kemudian dengan sinar ultraviolet gelombang panjang (366 nm). Ukur dan catat jarak bercak dari titik penotolan, dan catat panjang gelombang untuk tiap bercak yang tampak. Jika perlu, semprot bercak dengan pereaksi yang tertera pada monografi, amati dan bandingkan kromatogram zat yang diperiksa dengan kromatogram zat standar. Hitung nilai  $R_f$  seperti pada kromatografi kertas.

### Kromatografi Gas

Kromatografi gas dapat dianggap sebagai suatu bentuk kromatografi kolom di mana fase gerak adalah gas yang disebut gas pembawa. Fase diam dapat berupa zat penjerap aktif misalnya alumina, silika gel atau karbon (kromatografi gas padat) atau dapat berupa cairan yang dilapiskan sebagai lapisan tipis pada zat pada penyangga inert yang halus, misalnya kiselgur, serbuk bata, butir gelas atau bahan lain yang sesuai (kromatografi gas cair). Jika diameter kolom kromatografi sangat kecil, fase diam dilapiskan pada dinding dalam sampai diperoleh kolom tabung terbuka atau kolom kapiler. Bahan tertentu tidak memerlukan pelapisan dengan fase cair, misalnya butiran poliaromatik berpori, dan

ini sangat berguna untuk penggunaan yang khusus. Zat yang diuji dimasukkan ke dalam aliran gas pembawa pada pangkal kolom dalam bentuk uap dan mengalami proses pembagian antara fase gas dari fase diam dengan cara yang serupa dengan bentuk kromatografi lainnya.

Koefisien pembagian ( $K$ ) dinyatakan sebagai berikut:

$$K = \frac{\text{Jumlah zat dalam fase diam}}{\text{Jumlah zat dalam fase bergerak}}$$

$K$  tergantung dari sifat zat, sifat dan jumlah fase diam, suhu dan kecepatan alir gas pembawa. Harga  $K$  tergantung dari kolom tertentu dan kondisi pengujian yang tepat, dan karena kondisi ini tidak mungkin diulangi secara tepat dalam laboratorium yang berlainan dan dengan alat yang berlainan, maka kondisi percobaan tersebut perlu ditetapkan secara fleksibel, berbeda dari cara pengujian yang bukan cara kromatografi. Bagian yang penting dari alat kromatografi gas cair (yang lebih banyak digunakan dari kromatografi gas padat) terdiri dari sumber gas pembawa (biasanya dalam bentuk gas tekan dalam silinder yang dilengkapi dengan katup pengurang tekanan), pengukur kecepatan alir yang dilewati gas pembawa, dan injektor yang dapat dipanaskan sampai suhu yang sesuai untuk menguapkan tetapi tidak menguraikan zat. Larutan zat yang diperiksa dimasukkan melalui injektor ke dalam aliran gas pembawa, sebaiknya langsung dimasukkan ke dalam kolom. Selama proses kromatografi berlangsung kecepatan alir gas pembawa dipertahankan tetap. Komponen dari larutan zat yang diperiksa terpisah menurut nilai  $K$  masing-masing komponen pada kondisi tertentu yang digunakan. Setelah keluar dari kolom, komponen tersebut masuk ke detektor jenis diferensial, yang sesuai, biasanya tergantung dari perubahan ionisasi dalam nyala atau perubahan daya hantar panas. Detektor jenis lain berguna untuk penggunaan khusus, misalnya detektor penangkap elektron yang sangat berguna untuk mendeteksi dengan peka senyawa halogen. Sinyal listrik dari detektor dilakukan ke amplifier yang dihubungkan dengan alat pencatat, misalnya alat pencatat kertas grafik yang mencatat sinyal terhadap waktu. Alat yang sangat kuat untuk mendeteksi adalah spektrometer massa yang dihubungkan dengan alat kromatografi gas. Alat ini sangat peka dan memberikan keterangan yang dapat memberi hasil identifikasi secara pasti zat yang keluar dari kolom. Kolom biasanya dibuat dari kaca (atau kadang-kadang dari logam, walaupun harus hati-hati karena zat organik tertentu mengalami reaksi penguraian karena katalisasi logam pada suhu yang dinaikkan) dan ditempatkan dalam ruang pemanas yang suhunya dapat diatur dan dipertahankan pada suhu yang berkisar sedikit di atas suhu kamar seperti lebih kurang 300°C menurut keperluannya. Ruang pemanas dapat juga diatur sampai kenaikan suhu yang tetap dalam waktu yang ditentukan dapat dipertahankan. "Program suhu" tersebut berguna untuk pemeriksaan campuran kompleks dari senyawa yang mempunyai sifat penguapan yang sangat berbeda. Biasanya digunakan kolom dengan ukuran panjang

yang bermacam-macam, yaitu dari 0,5—3 m untuk kolom terisi dan 10—100 m untuk kolom kapiler. Kolom yang banyak digunakan berukuran panjang lebih dari 1,5 m dan diameter dalam 2 mm sampai 5 mm. Bahan pengisi yang terdapat dalam kolom untuk kromatografi gas cair sangat mempengaruhi mutu dan efektifitas pemisahan. Zat padat penyangga, dengan bermacam macam ukuran partikel antara 24—80 (meskipun untuk tiap kolom ukuran partikel harus serba sama) harus inert, terutama bila yang diperiksa zat polar menggunakan zat padat penyangga yang dilapis dengan kadar rendah zat cair berpolaritas rendah. Bagian yang aktif pada zat padat penyangga dapat mengakibatkan kurva berekor dari zat, atau bahkan peruraian atau perubahan susunan. Reaktivitas zat padat penyangga dapat dikurangi dengan mereaksikan dengan pereaksi silanisasi sebelum dilapisi dengan fase diam. Residu zat yang disuntikkan dapat menyebabkan bagian pangkal kolom menjadi tidak efektif. Fase cair yang biasa digunakan termasuk polietilenglikol dan esternya, amida berbobot molekul tinggi, gum silikon, cairan silikon dan hidrokarbon. Gum silikon adalah senyawa polisiloksan yang disubsitusikan dan merupakan golongan fase diam yang sangat penting. Suhu tertinggi yang akan digunakan untuk suatu fase diam harus diperhatikan dengan teliti karena bila digunakan suhu secara berlebihan dapat terjadi kerusakan kolom yang dapat memberikan hasil yang meragukan. Sebelum digunakan, pada kolom baru harus dialirkan gas pembawa selama beberapa jam pada suhu sedikit di atas suhu yang akan digunakan, tetapi tidak melebihi suhu tertinggi yang dianjurkan.

Sebagai gas pembawa perlu dipilih gas yang inert, dan untuk detektor ionisasi nyala, nitrogen sangat memuaskan. Helium juga sesuai digunakan, biasanya dipilih untuk detektor konduktivitas panas karena mempunyai daya hantar panas yang tinggi. Helium tidak mudah diperoleh dan harganya mahal, sedangkan nitrogen dapat diperoleh dengan mudah. Untuk pengujian kuantitatif dengan kromatografi gas-cair biasanya digunakan standar internal karena perbandingan satu kromatogram dengan kromatogram lain yang dihasilkan oleh kedua injek dapat menyebabkan terjadinya kesalahan. Penambahan standar internal yang sesuai pada larutan zat yang diperiksa dan pada larutan standar menghilangkan kesalahan tersebut, karena perbandingan luas kurva atau tinggi kurva dari zat yang ditetapkan dan dari standar internal diperbandingkan dari satu kromatogram ke kromatogram lainnya. Pada penggunaan yang lain mungkin lebih sesuai digunakan proses normalisasi, terutama untuk penetapan cemaran. Dalam hal ini luas kurva dari cemaran yang akan ditetapkan dinyatakan sebagai kadar dalam % jumlah luas semua kurva dari zat yang diperiksa dan cemarannya. Karena kurva komponen utama biasanya paling kurang akan mempunyai pembesaran 2 tingkat lebih besar dari kurva cemaran yang lebih kecil, maka untuk penetapan ini perlu menggunakan integrator otomatis yang dapat dipercaya dan amplifier berjarak besar yang akan memberikan respon yang linier untuk komponen yang jumlahnya besar dan kecil. Luas kurva

ditetapkan dengan grafik. Pada keadaan tertentu dapat dibenarkan untuk menggunakan pengukuran tinggi kurva dari pada luas kurva, meskipun pengukuran luas kurva dianggap lebih teliti untuk penetapan kuantitatif. Jika pengukuran lebar kurva diperlukan, lebar kurva tersebut didefinisikan sebagai jarak antara dua titik persilangan pada garis dasar dengan garis singgung kurva. Jika menggunakan standar internal, cara berikut dapat diterapkan. Sediakan 3 macam larutan yaitu:

**Larutan (I).** Mengandung standar internal sejumlah yang sesuai dari zat standar yang sesuai dengan zat akan ditetapkan (pada penetapan cemaran, dapat digunakan cemaran itu sendiri, jika ada atau zat standar dengan kadar rendah yang mengandung cemaran tersebut). Kromatogram A yang diperoleh dapat menggambarkan hubungan antara respon standar internal dan zat uji.

**Larutan (II).** Mengandung zat uji; hal ini untuk dapat memastikan bahwa tidak ada cemaran yang akan keluar dengan waktu tambat yang sama dengan standar internal, atau jika ada kurva yang berhimpitan maka cemaran yang ada harus diperhitungkan.

**Larutan (III).** Mengandung zat uji dan standar internal (kadar standar internal sama dengan kadar pada larutan (I)). Data yang didapat dari kromatogram A dan C, jika perlu dikoreksi dengan data yang diperoleh dari kromatogram B, memungkinkan dapat ditetapkannya kadar kecil komponen yang ada dalam zat uji.

Jika digunakan cara normalisasi, cukup gunakan satu larutan saja, karena jumlah luas semua kurva kecil akan dinyatakan sebagai bagian dari jumlah luas kurva. Jika kurva kecil khusus akan ditentukan, diperlukan larutan kedua yang mengandung zat uji agar dapat identifikasi kurva yang sesuai pada kromatogram dari zat yang diperiksa.

#### Prosedur penetapan

Panjang kolom kromatografi, fase diam, suhu, gas pembawa, detektor, dan lain lain hal yang berhubungan dan diperlukan pada penetapan disebutkan dalam masing-masing monografi. Jika akan menginjek zat yang tidak menguap ke dalam kolom, dapat digunakan pre kolom yang sesuai. Dalam monografi tertentu, mungkin diperlukan efisiensi kolom minimum. Efisiensi kolom dinyatakan dengan rumus:

$$\frac{16 t^2 R}{LY^2}$$

$t^2R$  = jarak dalam cm. sepanjang garis dasar antara titik injek dan proyeksi titik puncak kurva yang dihasilkan oleh standar internal yang tertera pada monografi.

L = panjang kolom dalam meter.

Y = lebar kurva yang dihasilkan oleh standar internal.

Jika yang diperiksa larutan dalam air dan gunakan detektor ionisasi nyala, hasilnya tidak benar bila air dieuasi pada waktu yang sama dengan komponen yang dikehendaki. Untuk mendapatkan sensitivitas alat yang sesuai dan jumlah volume larutan injek yang sesuai sampai diperoleh respon yang cukup baik,

lakukan percobaan dengan menggunakan larutan I. Kadar standar internal jika perlu diatur, sampai respon standar internal pada alat pencatat hampir sama dengan respon zat uji. Buat kromatogram diferensial dengan injek sejumlah volume yang telah dipilih dari larutan I melalui injektor pada kolom kromatografi yang dipertahankan pada suhu yang sesuai dan dieluasi dengan gas pembawa. Ulangi penetapan dua kali. Buat kromatogram dengan cara yang sama menggunakan larutan II dan III dengan volume sama. Ukur luas kurva, atau jika faktor simetri terletak antara 0,95 dan 1,05, ukur tinggi kurva yang dihasilkan oleh zat uji, zat standar dan standar internal. Jika kurva campuran mempunyai waktu tambat yang sama dengan waktu tambat standar internal. Hitung luas kurva tersebut. Dari nilai yang diperoleh dihitung kadar zat uji. Faktor simetri kurva dihitung dengan rumus :

$$\frac{Y_x}{2A}$$

$Y_x$  = lebar kurva pada ketinggian 1/20 dari tinggi kurva.

A = jarak antara proyeksi titik puncak kurva pada garis mendatar pada ketinggian 1/20 dari tinggi kurva sampai titik potong garis mendatar tersebut dengan garis kurva.

Hasil penetapan dianggap benar, jika resolusi antara kurva yang diukur pada kromatogram lebih besar dari 1,0. Resolusi dihitung dengan rumus :

$$\frac{2(t_{Rb} - t_{Ra})}{Y_a + Y_b}$$

$t_{Rb}$  dan  $t_{Ra}$  = jarak sepanjang garis dasar antara titik awal dan proyeksi titik puncak dari 2 kurva yang berdekatan.

$Y_a$  dan  $Y_b$  = lebar kurva.

## Kromatografi Cair

Kemajuan dalam teknologi kolom, sistem pompa tekanan tinggi, dan detektor yang sensitif telah menyebabkan perubahan kromatografi kolom cair menjadi suatu sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi. Metode ini dikenal sebagai kromatografi cair kinerja tinggi. Teknik kromatografi cair dalam banyak hal dapat menghasilkan pemisahan yang sangat cepat seperti pada kromatografi gas, dengan keunggulan zat-zat yang tidak menguap atau tidak tahan panas dapat menggunakan kromatografi tanpa peruraian atau tanpa perlunya membuat derivat yang dapat menguap. Fase diam dapat berupa cairan atau polimer, yang di saluti atau terikat secara kimia pada permukaan penyangga sebagai lapisan tipis, yang mengurangi hambatan terhadap pemindahan berat, sampai keseimbangan antara fase gerak dan fase diam dapat tercapai dengan cepat. Suatu fase diam cair harus mempunyai sifat praktis tak bercampur dengan fase gerak, umumnya fase gerak perlu dijenuhkan terlebih dahulu dengan fase diam cair, agar fase diam tidak terbawa dari kolom. Fase diam berupa polimer yang

disalutkan pada penyangga umumnya lebih dapat bertahan. Suatu fase diam yang terikat secara kimia pada penyangga lebih mudah pemakaiannya dengan beraneka ragam pelarut serta suhu yang lebih tinggi. Tiga bentuk kromatografi cair kinerja tinggi yang paling, banyak digunakan adalah penukar ion, partisi dan adsorpsi.

Kromatografi penukar ion terutama digunakan untuk pemisahan zat-zat larut dalam air yang ionik atau dapat terionisasi dengan bobot molekul kurang dari 1500. Fase diam pada kromatografi penukar ion umumnya resin organik sintetik dengan gugus aktif yang berbeda-beda. Pada resin penukar kation terdapat gugus aktif yang bermuatan negatif dan resin ini digunakan untuk pemisahan zat-zat bersifat basa, misalnya amina. Sebaliknya pada kromatografi penukar anion terdapat gugus aktif bermuatan positif yang akan menarik zat-zat dengan gugus fosfat, sulfonat atau karboksilat yang bermuatan negatif. Senyawa larut air yang ionik atau yang dapat terionisasi akan mengalami tarikan oleh resin dan perbedaan dalam afinitas akan menyebabkan terjadinya pemisahan kromatografi. pH fase gerak, suhu, jenis ion, konsentrasi ionik, dan senyawa organik tertentu yang berfungsi untuk memodifikasi dapat mempengaruhi tertariknya zat terlarut, dan variabel variabel tersebut dapat diatur agar diperoleh derajat pemisahan yang diinginkan.

Pada kromatografi partisi digunakan fase gerak dan fase diam dengan polaritas yang berbeda. Jika fase gerak bersifat polar dan fase diam non polar, dikenal sebagai kromatografi fase terbalik, maka senyawa non polar yang larut dalam hidrokarbon dengan bobot molekul kurang dari 1000, seperti vitamin larut lemak dan antraknon dapat dipisahkan berdasarkan atas afinitas terhadap fase diam. Modifikasi pelarut fase gerak yang polar dengan pelut kurang polar menyebabkan berkurangnya afinitas serta tertambatnya senyawa pada kolom. Jika fase gerak non polar dan fase diam polar, seperti golongan alkohol dan amina dapat dikromatografi. Fase gerak yang non polar dapat dimodifikasi dengan suatu pelarut yang lebih polar untuk mengurangi tahanan dan mengubah pemisahan. Beraneka ragam senyawa non ionik dapat dikromatografi dengan kromatografi adsorpsi, dengan memilih fase diam dan fase gerak yang sesuai.

## Peralatan

Kromatografi cair terdiri dari sistem pompa, injektor analit, kolom kromatografi, detektor, penguat sinyal dan perekam. Sistem pompa tekanan tinggi mengalirkan pelarut fase gerak dari bejana pelarut ke kolom melalui pipa tekanan tinggi. Dua cara digunakan untuk memasukan analit ke dalam kolom, yaitu injek ke dalam arus yang mengalir dan injek waktu alir berhenti. Teknik tersebut dapat dilakukan menggunakan injektor atau katup injektor. Teknik injeksi dengan injektor, dapat digunakan suatu septum apabila tekanan pada bagian atas kolom kurang dari 70 atmosfer (lebih kurang 1000 psi). Pada tekanan yang lebih tinggi dapat digunakan suatu katup injektor untuk memasukan zat uji. Beberapa sistem katup



mempunyai suatu tabung lingkaran terkalibrasi yang diisi dengan zat uji, yang kemudian dipindahkan oleh sistem katup ke dalam fase gerak yang mengalir. Sistem katup lainnya memungkinkan analit dimasukkan ke dalam rongga dengan menggunakan injektor. Rongga yang terisi tersebut kemudian oleh sistem katup dialihkan ke dalam arus bertekanan tinggi. Pada teknik aliran berhenti, aliran kolom dihentikan dan setelah tekanan pada injektor turun sampai nol, injektor dibuka dan analit disuntikan dengan memakai injektor. Kemudian injektor ditutup dan pompa dijalankan kembali. Tekanan dengan cepat tercapai kembali dan zona penyebaran kecil dalam proses ini. Teknik aliran berhenti, memberikan injeksi berulang pada tekanan tinggi yang lebih baik dari pada kalau menggunakan septum. Masalah rusaknya septum oleh berbagai pelarut dengan demikian juga dapat dihindari.

Kolom analitik yang digunakan untuk pemisahan umumnya mempunyai diameter dalam yang kecil antara 2–4 mm; kolom dengan diameter yang lebih besar digunakan untuk keperluan preparatif. Kolom dapat dipanaskan agar dihasilkan pemisahan yang lebih efisien, tetapi suhu di atas 60°C jarang digunakan, karena mungkin akan terjadi penguraian fase diam ataupun penguapan fase gerak. Bila tidak dinyatakan lain pada monografi, maka kolom dipertahankan pada suhu kamar.

Detektor yang umumnya dipakai meliputi fotometer ultraviolet, refraktometer diferensial dan fluorometer.

Fotometer ultraviolet mempunyai batas kepekaan kurang dari 1 mg. Ruang lingkup bertambah luas lagi dengan pemakaian spektrofotometer yang dilengkapi dengan kuvet mikro serta detektor yang dapat dioperasikan dengan berbagai panjang gelombang.

Refraktometer diferensial mendeteksi perbedaan indeks bias pelarut murni dan indeks bias larutan zat uji dalam pelarut tersebut. Namun demikian detektor ini kurang peka dengan batas deteksi kurang dari 1 µg serta peka terhadap perubahan kecil dalam komposisi pelarut, laju alir dan suhu, sampai perlu dipakai suatu kolom dan aliran fase gerak standar untuk memperoleh garis dasar yang memuaskan.

Fluorometer merupakan detektor yang peka untuk senyawa yang dapat berfluoresensi atau dapat diubah menjadi senyawa turunannya yang berfluoresensi dengan jalan perubahan kimia atau dengan reaksi penggabungan dengan pereaksi yang berfluoresensi pada gugus fungsional yang spesifik. Untuk beberapa pereaksi, pembuatan senyawa turunan dilakukan sebelum pemisahan kromatografi. Pada pendekatan lain, pereaksi dimasukkan ke dalam aliran fase gerak dan bereaksi langsung dengan analit secara insitu dan senyawa turunannya yang terbentuk diukur oleh detektor.

Suatu detektor elektrokimia mempunyai keunggulan jika dipakai untuk mengukur senyawa mudah teroksidasi, terutama golongan fenol dan katekol yang sangat kecil.

Pada umumnya, sinyal yang berasal dari detektor diperkuat terlebih dahulu sebelum disampaikan ke

alat perekam otomatis yang sesuai, dalam hal ini sinyal merupakan fungsi waktu, dapat pula sinyal dikirimkan ke integrator digital elektronik untuk mengukur luas puncak kromatogram secara otomatis.

Komposisi fase gerak berpengaruh nyata terhadap kinerja kromatografi dan harus terkontrol. Komposisi dapat mempunyai pengaruh yang jauh lebih besar terhadap faktor kapasitas daripada suhu, (faktor kapasitas =  $k$  adalah perbandingan waktu yang diperlukan selama fase diam terhadap waktu yang diperlukan selama dalam fase gerak). Pada kromatografi partisi dan adsorpsi, fase gerak dapat dimodifikasi dengan pelarut yang lain, sedangkan pada kromatografi penukar ion, baik pH dan kekuatan ion maupun modifikasi pelarut dapat mengubah faktor kapasitas. Teknik mengubah pelarut secara berkesinambungan selama berlangsungnya kromatografi dinamakan sistem bertingkat atau gradien dan kadang-kadang digunakan untuk kromatografi dari contoh yang kompleks yang terdiri dari komponen dengan faktor kapasitas yang perbedaannya besar.

Detektor yang peka terhadap perubahan pelarut, seperti refraktometer diferensial lebih sukar untuk digunakan dengan teknik elusi bertingkat atau gradien.

### Prosedur

Identifikasi senyawa dan teknik kalibrasi dan reduksi data yang digunakan dalam kromatografi cair kinerja tinggi pada dasarnya sama dengan dalam kromatografi gas. Untuk analisis kuantitatif yang akurat, detektor perlu mempunyai rentang linier yang luas dan komponen yang akan diukur harus dapat dibedakan dari zat pengganggu. Rentang dinamik linier diartikan sebagai rentang ukuran contoh dari batas deteksi minimum sampai maksimum yang masih memberikan respon sinyal detektor yang linier, yaitu respon puncak pada perekam berbanding lurus dengan kadar zat yang diuji.

Akar fleksibilitas maksimum dalam analisis kuantitatif, rentang ini harus mencakup lebih kurang tiga orde besaran. Baik tinggi puncak maupun luasnya dapat dihubungkan dengan konsentrasi contoh.

Istilah “respon puncak”, dinyatakan sebagai  $A_s$  untuk respon contoh dan  $A_{std}$  untuk respon standar, telah digunakan untuk menyatakan pengukuran dalam kromatografi. Istilah ini mencakup luas puncak serta pengukuran elektronik lainnya. Tinggi puncak mudah diukur, tetapi sangat dipengaruhi perubahan waktu tambat yang disebabkan oleh variasi suhu dan komposisi pelarut. Oleh karena itu, luas puncak dianggap parameter yang lebih akurat untuk pengukuran kuantitatif.

Respon detektor dapat dikalibrasi berdasarkan respon puncak dari standar yang kadarnya diketahui menggunakan prosedur standarisasi eksternal atau internal. Suatu kekurangan dalam kalibrasi eksternal, yaitu perbandingan langsung respon puncak yang diperoleh pada kromatografi contoh uji dan kadar tertentu standar yang bersangkutan, akurasi dan presisinya ditentukan oleh injeksi berulang analit. Oleh

karena keberulangan penyuntikan pada tekanan tinggi sangat bervariasi, hasil kuantitatif yang lebih baik umumnya diperoleh bila digunakan metode kalibrasi internal. Suatu standar internal dengan kadar yang diketahui ditambahkan pada larutan uji maupun larutan standar yang kadarnya diketahui, dan perbandingan respon puncak zat uji terhadap standar internal.

Secara normal terdapat variasi dalam peralatan, bahan dan teknik. Suatu pengujian kesesuaian sistem dapat digunakan untuk memastikan bahwa suatu sistem dapat digunakan.

### Kesesuaian sistem

Bila memakai metode kromatografi, seperti kromatografi cair kinerja tinggi atau kromatografi gas, pada umumnya dikehendaki adanya kepastian kesesuaian dan keefektifan sistem operasional yang digunakan. Perlu dicatat bahwa pencantuman spesifikasi parameter tertentu dalam suatu monografi tidaklah berarti kondisi operasional lain yang sesuai tidak dapat digunakan. Penyesuaian kondisi operasional dapat dilakukan, agar diperoleh kondisi operasional dan kromatogram yang baik. Untuk memastikan keefektifan sistem operasional akhir, perlu dilakukan uji kesesuaian sebelum digunakan.

Pada hakekatnya pengujian semacam itu berdasarkan konsep, bahwa elektronik, peralatan, zat uji, dan kondisi operasional analitik membentuk satu sistem analitik tunggal yang dapat diuji fungsinya secara keseluruhan. Data spesifik dikumpulkan dari injek ulang larutan uji atau larutan standar. Data ini disesuaikan terhadap nilai maksimum dan minimum, seperti efisiensi, presisi internal, faktor ikutan, resolusi, waktu tambat, bentuk kurva kalibrasi, respon dan perolehan kembali, seperti yang tertera pada masing-masing monografi. Suatu parameter yang berguna adalah injek berulang dari larutan standar paling baik dinyatakan dalam standar deviasi relatif yang dapat dihitung. Bila digunakan standar internal:

$$X_i = R_s = \frac{r_s}{r_i}$$

$r_s$  = respon puncak standar;

$r_i$  = respon puncak standar internal, atau bila yang dimaksudkan adalah metode standar eksternal maka  $r_s$  = respon puncak.

Injek ulang larutan standar umumnya tertera dalam masing-masing monografi, hasil pengukuran dibandingkan untuk memastikan apakah persyaratan presisi telah dipenuhi. Bila tidak dinyatakan lain dalam masing-masing monografi, untuk perhitungan digunakan data kromatogram lima kali hasil injek ulang, jika dinyatakan batas deviasi relatif 2,0% atau kurang, dan digunakan data kromatogram injek ulang enam kali, jika dinyatakan batas deviasi relatif lebih dari 2,0%. Akan bermanfaat pula jika ditentukan faktor ikutan untuk membatasi tidak simetri yang diperbolehkan. Faktor ikutan,  $T$ , didefinisikan sebagai perbandingan antara jarak tepi muka sampai tepi belakang puncak,  $W$

0,05, dibagi oleh dua kali jarak  $f$ , dari maksimum puncak sampai tepi muka puncak, jarak tersebut diukur pada titik yang ketinggiannya 5% dari tinggi puncak di atas garis dasar. Untuk suatu puncak yang simetris, faktor ikutan  $T$  besarnya satu, dan besarnya harga  $T$  ini akan bertambah, jika kromatogram makin tampak berekor. Harga resolusi,  $R$ , disyaratkan, untuk memastikan terpisahnya komponen yang terelusi berdekatan, untuk memastikan efisiensi pemisahan sistem secara umum, atau bila digunakan standar internal.

## Larutan Volumetrik

Larutan volumetrik terdiri dari larutan normal dan larutan molar, dibuat dari zat pereaksi atau zat standar. Kecuali dinyatakan lain:

**Larutan normal.** Larutan mempunyai kekuatan 1 normal (1 N), jika tiap 1000 ml larutan mengandung 1 gram ekuivalen zat aktif.

**Larutan molar.** Larutan mempunyai kekuatan 1 molar (1 M), jika tiap 1000 ml larutan mengandung 1 gram molekul zat aktif.

Semua larutan volumetrik, baik yang dibuat dengan cara melarutkan atau mengencerkan larutan volumetrik yang lebih pekat, sebelum distandarisasi harus dicampur dengan pengocokan. Oleh karena konsentrasi larutan volumetrik dapat berubah selama penyimpanan, konsentrasinya harus selalu distandarisasi.

Jika larutan volumetrik terdapat dalam beberapa konsentrasi, cara pembuatan dan pembakuan yang terperinci hanya diuraikan untuk larutan yang sering digunakan.

Pembuatan dan pembakuan larutan yang lebih pekat atau lebih encer dilakukan dengan cara yang sama menggunakan pereaksi yang sebanding.

Untuk larutan volumetrik dengan konsentrasi lebih rendah, dapat dibuat dengan cara pengenceran saksama larutan volumetrik lebih pekat dan perlu dilakukan standarisasi.

Larutan volumetrik yang sangat encer dan tidak stabil misalnya kalium permanganat 0,01 M dibuat dengan pengenceran saksama larutan volumetrik pekat dengan air, jika perlu dengan air bebas karbon dioksida. Kecuali dinyatakan lain larutan volumetrik dibuat menurut cara yang tertera di bawah ini.

### Amonium tiosianat 0,1 M

Tiap 1000,0 ml mengandung 7,612 g  $\text{NH}_4\text{SCN}$  (BM: 76,12).

**Pembuatan.** Larutkan dan encerkan 8 g dalam air sampai batas volume 1000,0 ml.

**Pembakuan.** Masukkan 30,0 ml perak nitrat 0,1 M ke dalam labu bersumbat kaca. Encerkan dengan 50 ml air, tambahkan 2 ml asam nitrat. Titrasi dengan larutan amonium tiosianat menggunakan indikator larutan besi (III) amonium sulfat sampai tepat mulai terjadi warna coklat merah. Hitung normalisasi larutan.

**Asam hidroklorida 1 M**

Tiap 1000,0 ml mengandung 36,46 g HCl (BM: 36,46)

**Pembuatan.** Larutkan dan encerkan 36,46 g asam hidroklorida dalam air sampai batas volume 1000,0 ml.

**Pembakuan larutan 1 M.** Larutkan dan encerkan 1,5 g natrium karbonat anhidrat (yang sebelumnya telah dikeringkan pada suhu 270°C selama 1 jam) dalam air sampai batas volume 100 ml. Titrasi dengan asam hidroklorida 1 M menggunakan indikator larutan merah metil. Panaskan larutan sampai mendidih, dinginkan dan lanjutkan titrasi. Panaskan lagi sampai mendidih dan titrasi lagi sampai warna merah muda tetap dengan pendinginan lagi. Hitung molaritas larutan. Setiap ml asam hidroklorida 1 M setara dengan 52,99 mg natrium karbonat anhidrat.

**Asam oksalat 0,1 M**

Tiap 1000,0 ml mengandung 6,303 g  $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (BM: 126).

**Pembuatan.** Larutkan dan encerkan 6,303 g asam oksalat dalam air sampai batas volume 1000,0 ml.

**Pembakuan.** Titrasi dengan kalium permanganat 0,1 M. Hitung molaritas larutan.

**Asam periodat 0,1 M**

Tiap 1000,0 ml mengandung 22,79 g  $\text{HIO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (BM: 228).

**Pembuatan larutan 0,1 M.** Larutkan dan encerkan 22,79 g  $\text{HIO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dalam air sampai batas volume 1000 ml.

**Pembakuan.** Pada 25,0 ml, tambah 30 ml larutan kalium iodida, biarkan selama 1 menit. Titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 M, gunakan larutan kanji sebagai indikator.

**Asam perklorat 0,1 M**

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 10,05 g  $\text{HClO}_4$  (BM: 100,5)

**Pembuatan larutan 0,1 M.** Campur 8,5 ml asam perklorat (70%) dengan 500 ml asam asetat glasial dan 21 ml asetat anhidrat dinginkan, tambah asam asetat glasial sampai batas volume 1000,0 ml.

**Pembakuan.** Larutkan dan encerkan 700 mg kalium biftalat (dikeringkan pada suhu 120°C selama 2 jam) dalam asam asetat glasial sampai batas volume 50 ml. Tambah 2 tetes kristal violet, titrasi dengan larutan asam perklorat sampai terbentuk warna hijau kebiruan. Lakukan titrasi blanko. Hitung molaritas larutan. Setiap ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 20,42 mg kalium biftalat.

**Asam sulfat 1 M**

Tiap 1000 ml larutan mengandung 98,08 g  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (BM: 98,08)

**Pembuatan larutan 1 M.** Larutkan dan encerkan 98,08 g  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dalam air sampai batas volume 1000 ml.

**Pembakuan.** Lakukan pembakuan seperti tertera pada asam hidroklorida 1 M.

**Asam sulfat-etanol 0,1 M**

Tiap 1000 ml larutan mengandung 98,08 g  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (BM: 98,08)

**Pembuatan larutan 0,1 M.** Tambah dengan hati-hati dengan pengadukan 2,78 ml asam sulfat dalam etanol absolut sampai batas volume 1000,0 ml.

**Pembakuan.** Lakukan pembakuan seperti tertera pada asam hidroklorida 1 M.

**Barium perklorat 0,01 M**

Tiap 1000 ml larutan mengandung 3,362 g  $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$  (BM: 336,2)

**Pembuatan larutan 0,01 M.** Larutkan dan encerkan 3,362 g  $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$  dalam air sampai batas volume 1000,0 ml.

**Pembakuan.** Pada 5 ml asam sulfat 0,05 M, tambah 5 ml air, 50 ml dapar asetat pH 3,7 dan 0,5 ml larutan alizarin S dan titrasi dengan larutan barium perklorat sampai terbentuk warna merah orange. Setiap ml asam sulfat 0,05 M setara dengan 16,81 mg  $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$ .

**Besi (II) amonium sulfat 0,1 M**

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 39,21 g  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (BM: 392,13).

**Pembuatan larutan 0,1 M.** Larutkan 39,21 g besi (II) amonium sulfat dalam 100 ml asam sulfat 2 M dan encerkan dengan air (sebelumnya telah didinginkan) sampai batas volume 1000,0 ml.

**Pembakuan.** Pada 25 ml, tambah 10 ml asam sulfat 1 M dan 1 ml asam ortofosforat. Titrasi dengan kalium permanganat 0,02 M. Setiap ml kalium permanganat 0,02 M setara dengan 39,21 mg  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ .

**Besi (II) sulfat 0,1 M**

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 27,80 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (BM: 278,0)

**Pembuatan larutan 0,1 M.** Larutkan 27,80 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dalam 500 ml asam sulfat 1 M dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Pembakuan.** Pada 25 ml larutan, tambah 3 ml asam ortofosforat dan titrasi dengan kalium permanganat 0,02 M. Setiap ml kalium permanganat 0,02 M setara dengan 27,80 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

**Besi (III) amonium sulfat 0,1 M**

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 48,22 g  $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  (BM: 482,2)

**Pembuatan larutan 0,1 M.** Larutkan 48,22 g besi (III) amonium sulfat dalam campuran 6 ml asam sulfat dan 300 ml air, encerkan dengan air sampai batas volume 1000,0 ml.

**Pembakuan.** Pada 25 ml larutan, tambah 3 ml asam hidroklorida dan 2 g kalium iodida, diamkan selama 10 menit dan titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 M, gunakan kanji mucilage sebagai indikator. Setiap ml natrium tiosulfat 0,1 M setara dengan 48,22 g  $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ .

**Dinatrium edetat 0,1M**

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 37,22 g  $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$  (BM: 372,2).

**Pembuatan larutan 0,1 M.** Larutkan 37,22 g  $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$  (dalam 500 ml air, tambah 100 ml natrium hidroksida 1 M dan encerkan dengan air sampai volume 1000 ml.

**Pembakuan.** Larutkan 0,12 g serbuk seng dalam 4 ml asam hidroklorida 7 M dan tambah 0,1 ml air brom. Didihkan sampai uap brom hilang, dinginkan, tambah natrium hidroksida 2 M sampai larutan menjadi sedikit asam atau netral. Lakukan titrasi kompleksometri menggunakan seng. Setiap ml dinatrium edetat setara dengan 6,54 mg Zn.

**Iodium 0,5 M**

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 126,9 g I (BM: 235,8)

**Pembuatan larutan 0,5 M.** Larutkan dan encerkan 126,9 g iodium dan 200 g kalium iodida dalam air sampai batas volume 1000 ml.

**Pembakuan.** Pada 2 ml larutan, tambah 1 ml asam asetat 2 M dan 50 ml air. Titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 M menggunakan larutan kanji sebagai indikator. Setiap ml natrium tiosulfat 0,1 M setara dengan 12,69 mg I.

**Kalium arsenit 0,1 M**

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 7,301 g  $KAsO_2$ .

**Pembuatan larutan 0,1 M.** Larutkan 4,9455 g arsen trioksida (yang telah diserbukkan dan dikeringkan pada suhu 105°C sampai bobot tetap) dalam 75 ml kalium hidroksida 1 N. Tambah 40 g kalium bikarbonat, larutkan dalam 200 ml air, encerkan dengan air sampai batas volume 1000,0 ml.

**Kalium biftalat 0,1 M (kalium hidrogenftalat 0,1 M)**

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 20,42 g  $C_8H_5O_4K$  (BM: 204,2)

**Pembuatan larutan 0,1 M.** Larutkan 20,42 g kalium hidrogenftalat dalam 800 ml asam asetat anhidrat, panaskan di atas penangas air sampai larut sempurna, dinginkan sampai suhu 20°C dan encerkan dengan asam asetat anhidrat sampai batas volume 1000 ml.

**Kalium dikromat 0,0167 M**

Tiap 1000,0 ml mengandung 4,9 g  $K_2Cr_2O_7$  (BM: 294,2)

**Pembuatan larutan 0,0167 M.** Larutkan dan encerkan 4,9 g kalium dikromat dalam air sampai batas volume 1000,0 ml

**Pembakuan.** Pada 20 ml larutan, tambah 1 g kalium iodida, 7 ml asam hidroklorida 2 M dan 250 ml air. Titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 M, menggunakan 3 ml larutan kanji sebagai indikator sampai terbentuk warna hijau terang. Setiap ml natrium tiosulfat 0,1 M setara dengan 4,9 mg  $K_2Cr_2O_7$ .

**Kalium bromat 0,02 M**

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 3,340 g  $KBrO_3$  (BM: 167)

**Pembuatan larutan 0,02 M.** Larutkan dan encerkan 3,340 g kalium bromat dalam air sampai batas volume 1000,0 ml.

**Kalium hidroksida 1 M**

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 56,11 g KOH (BM: 56,11)

**Pembuatan larutan 1 M.** Larutkan dan encerkan 56,11 g kalium hidroksida dalam air bebas dioksida sampai batas volume 1000,0 ml.

**Pembakuan.** Titrasi 20 ml larutan dengan asam hidroklorida 1 M, gunakan 0,5 ml fenolftalen sebagai indikator. Setiap asam hidroklorida 1 M setara dengan 56,11 mg KOH.

**Kalium hidroksida-etanol 0,5 M**

Tiap 100 ml larutan mengandung 28,06 g KOH (BM: 56,11)

**Pembuatan larutan 0,5 M.** Larutkan 28,06 g kalium hidroksida dalam 5 ml air dan encerkan dengan etanol bebas aldehid (96%) sampai volume 100 ml.

**Pembakuan.** Titrasi 20 ml larutan dengan asam hidroklorida 0,5 M, gunakan 0,5 ml fenolftalen sebagai indikator. Setiap asam hidroklorida 0,5 M setara dengan 28,06 mg KOH.

**Kalium iodat 0,05 M**

Tiap 1000 ml larutan mengandung 10,7 g  $KIO_3$  (BM: 214)

**Pembuatan larutan 0,05 M.** Larutkan dan encerkan 10,7 kalium iodat dalam air sampai batas volume 1000 ml.

**Pembakuan.** Encerkan 25 ml larutan dengan air sampai batas volume 100 ml. Pada 20 ml larutan, tambah 2 g kalium iodida dan 10 ml asam sulfat encer. Titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 M, gunakan 1 ml larutan kanji sebagai indikator. Setiap ml natrium tiosulfat 0,1 M setara dengan 3,566 mg  $KIO_3$ .

**Kalium permanganat 0,02 M**

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 3,161 g  $KMnO_4$  (BM: 158)

**Pembuatan larutan 0,02 M.** Larutkan dan encerkan 3,161 g kalium permanganat dalam 1000 ml air, panaskan di atas penangas air selama 1 jam, dinginkan dan saring dengan gelas penyaring.

**Pembakuan.** Pada 20 ml larutan, tambah 2 g kalium iodida dan 10 ml asam sulfat 1 M. Titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 M, gunakan 1 ml larutan kanji sebagai indikator. Setiap ml natrium tiosulfat 0,1 M setara dengan 3,161 mg  $KMnO_4$ .

**Litium metoksida 0,1 M**

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 0,694 g Li.

**Pembuatan larutan 0,1 M.** Larutkan 0,694 g litium

dalam 150 ml metanol anhidrat, dan encerkan dengan toluen sampai batas volume 1000 ml.

**Pembakuan.** Pada 10 ml dimetilformamid, tambah 0,05 ml biru timol 0,3% b/v dalam metanol. Titrasi dengan larutan litium metoksida sampai terbentuk warna biru. Segera tambah 0,2 g asam benzoat, aduk dan titrasi dengan litium metoksida sampai warna biru tetap. Setiap ml litium metoksida 0,1 M setara dengan 12,21 mg  $C_7H_6O_2$ .

#### Magnesium sulfat 0,05 M

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 12,325 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (BM: 246,5)

**Pembuatan larutan 0,05 M.** Larutkan dan encerkan 12,325 g magnesium sulfat dalam air sampai batas volume 1000 ml.

**Pembakuan.** Lakukan titrasi kompleksometri, gunakan 40 ml larutan magnesium sulfat. Setiap ml dinatrium edetat setara dengan 24,65 mg  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ .

#### Natrium arsenit 0,1 M (BM: 49,46)

**Pembuatan.** Larutkan 4,946 g arsenitrioksida dalam campuran 20 ml larutan natrium hidroksida dan 20 ml air, encerkan dengan air sampai batas volume 400 ml, tambah asam hidroklorida 2 M sampai larutan netral, gunakan kertas lakmus. Larutkan dan encerkan 2 g natrium bikarbonat dengan air sampai 500,0 ml.

#### Natrium hidroksida 1 M

Tiap 1000 ml larutan mengandung 40 g natrium hidroksida (BM:40).

**Pembuatan larutan 1 M.** Larutkan 40 g natrium hidroksida dalam air bebas karbondioksida sampai batas volume 1000,0 ml.

**Pembakuan.** Titrasi 20 ml larutan dengan asam hidroklorida 1 M menggunakan indikator yang sesuai pada penetapan kadar. Setiap ml asam hidroklorida 1 M setara dengan 40,0 mg NaOH.

Jika natrium hidroksida 0,1 M digunakan pada penetapan kadar garam halida dari basa organik. Larutkan 0,1 g asam benzoat dalam campuran 5 ml asam hidroklorida 0,01 M dan 50 ml etanol (96%). Titrasi dan catat penambahan volume pada dua titik infleksi. Setiap ml asam hidroklorida 0,1 M setara dengan 12,21 mg  $C_7H_6O_2$ .

#### Natrium hidroksida-etanol 0,1 M.

Tiap 1000 ml larutan mengandung 4,0 g natrium hidroksida (BM:40).

**Pembuatan larutan 0,1 M.** Larutkan 4,0 g natrium hidroksida 10 M dengan etanol absolut sampai volume 250 ml.

**Pembakuan.** Larutkan 0,2 g asam benzoat dalam campuran 10 ml etanol (96%) dan 2 ml air. Titrasi dengan natrium hidroksida etanol menggunakan 0,2 larutan timolftalein sebagai indikator. Setiap ml natrium hidroksida etanol 0,1 M setara dengan 12,21 mg  $C_7H_6O_2$ .

#### Natrium metoksida 0,1 M

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 5,402 g  $CH_3ONa$  (BM:54,02)

**Pembuatan larutan 0,1 M.** Dinginkan 175 ml metanol anhidrat dalam air es dan tambah 2,5 g Na. Encerkan dengan toluen sampai batas volume 1000,0 ml.

**Pembakuan.** Pada 10 ml dimetilformamida, tambah 0,05 ml biru timol 0,3% b/v dalam metanol. Titrasi dengan natrium metoksida sampai terbentuk warna biru. Segera tambah 0,2 g asam benzoat, aduk dan titrasi kembali sampai warna biru tetap. Setiap ml natrium metoksida 0,1 M setara dengan 12,21 mg  $C_7H_6O_2$ .

#### Natrium nitrit 0,1 M

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 6,900  $NaNO_2$  (BM:69)

**Pembuatan larutan 0,1 M.** Larutkan 6,900 g natrium nitrit dalam air sampai batas volume 1000,0 ml.

**Pembakuan.** Larutkan 0,3 g asam sulfanilat dalam 50 ml asam hidroklorida 2 M, tambah 3 g kalium bromida, dinginkan dalam air es. Titrasi dengan natrium nitrit 0,1 M tetapkan titik akhir.

#### Natrium tetrafenilborat 0,01 M

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 3,422 g  $NaB(C_6H_5)_4$  (BM:342,2).

**Pembuatan larutan 0,01 M.** Larutkan 3,5 g natrium tetrafenilborat dalam 50 ml air, aduk selama 20 menit dengan 0,5 g aluminium hidroksida gel, tambahkan 250 ml air dan 16,6 g natrium klorida dan diamkan selama 30 menit. Saring, tambahkan 600 ml air, atur pH 8,0 – 9,0 dengan natrium hidroksida dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000,0 ml.

**Pembakuan.** Larutkan 7 mg kalium klorida (sebelumnya dikeringkan pada suhu 150°C selama 1 jam) dalam 5 ml dapar asetat pH 3,7 dan 5 ml air, tambah 15 ml larutan natrium tetrafenil borat, diamkan selama 5 menit dan saring. Pada 20 ml hasil saringan, tambah 0,5 ml biru bromofenol dan titrasi dengan setilpiridinum klorida 0,005 M sampai terbentuk warna biru. Lakukan titrasi blanko. Molaritas larutan dengan rumus:

$$\frac{a w}{[15 (a - b) 0,07455]}$$

a = volume setilpiridinum klorida 0,005 M saat titrasi blanko (ml).

b = volume setilpiridinum klorida 0,005 M saat titrasi uji (ml).

w = berat kalium klorida (g)

#### Natrium tiosulfat 0,1 M

Tiap 1000 ml larutan mengandung 24,82  $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$  (BM: 248,2).

**Pembuatan larutan 0,1 M.** Larutkan dan encerkan 24,82 g natrium tiosulfat dan 0,2 g natrium karbonat dalam air bebas karbon dioksida sampai batas volume 1000 ml.

**Pembakuan.** Pada 20 ml kalium bromat 0,0167 M, tambah 40 ml air, 10 ml larutan kalium iodida dan 5 ml asam hidroklorida 7 M. Titrasi dengan larutan natrium tiosulfat, menggunakan 1 ml larutan kanji sebagai indikator. Setiap ml natrium tiosulfat 0,1 M setara dengan 2,784 mg  $\text{KBrO}_3$ .

#### Perak nitrat 0,1 M

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 16,99 g  $\text{AgNO}_3$  (BM: 169,9)

**Pembuatan larutan 0,1 M.** Larutkan dan encerkan 16,99 g perak nitrat dalam air sampai batas volume 1000,0 ml.

**Pembakuan.** Larutkan 0,1 g natrium klorida dalam 30 ml air. Titrasi dengan perak nitrat, tentukan titik akhir secara potensiometrik. Setiap ml perak nitrat 0,1 M setara dengan 5,844 mg  $\text{NaCl}$ .

#### Seng klorida 0,05 M

Tiap 1000 ml larutan mengandung 6,815 g  $\text{ZnCl}_2$  (BM: 136,3).

**Pembuatan larutan 0,05 M.** Larutkan 6,815 g seng klorid dalam air sampai batas volume 1000,0 ml

**Pembakuan.** Pada 20 ml larutan, tambah 5 ml asam asetat 2 M. Lakukan titrasi kompleksometri. Setiap ml dinatrium edetat 0,1 M setara dengan 13,63 mg  $\text{ZnCl}_2$ .

#### Seng sulfat 0,1 M

Tiap 1000,0 ml mengandung 28,75 g  $\text{ZnSO}_4$  (BM: 287,5)

**Pembuatan larutan 0,1 M.** Larutkan dan encerkan 28,75 g seng sulfat dalam air sampai batas volume 1000,0 ml.

**Pembakuan.** Pada 20 ml larutan, tambah 5 ml asam asetat 2 M dan lakukan titrasi kompleksometri. Setiap ml dinatrium edetat 0,1 M setara dengan 28,75 mg  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

#### Serium (IV) amonium sulfat 0,1 M

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 63,26 g  $2(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

**Pembuatan larutan 0,1 M.** Larutkan 63,26 g serium (IV) amonium sulfat dalam campuran 30 ml asam sulfat dan 500 ml air, dinginkan dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000,0 ml.

**Pembakuan.** Pada 25 ml larutan, tambah 2 g kalium iodida dan 150 ml air. Titrasi dengan natrium tiosulfat setara dengan 63,26 g  $2(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

#### Serium (IV) sulfat 0,1 M

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 40,43 g  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (BM: 404,3).

**Pembuatan larutan 0,1 M** Larutkan 40,43 g serium (IV) sulfat dalam campuran 500 ml air dan 50 ml asam sulfat (96% b/b). Dinginkan dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Pembakuan** Pada 25 ml larutan, tambah 2 g kalium iodida, 150 ml air dan 1 ml larutan kanji. Titrasi dengan

natrium tiosulfat 0,1 M. Setiap ml natrium tiosulfat 0,1 M setara dengan 40,43 mg  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ .

#### Tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M

Tiap 1000,0 ml larutan mengandung 25,95 g  $\text{C}_{16}\text{H}_{37}\text{NO}$  (BM: 259,5).

**Pembuatan larutan 0,1 M.** Larutkan 40 tetrabutylamonium iodida dalam 90 ml metanol anhidrat, tambah 20 g serbuk perak oksida dan kocok dengan kuat selama 1 jam. Setrifus beberapa ml dari campuran dan cairan supernatan untuk iodida. Jika reaksi iodida menunjukkan positif, tambah 2 g perak oksida dan kocok selama 30 menit. Ulangi tahap ini sampai campuran bebas iodida, saring dengan gelas penyaring dan bilas gelas penyaring dengan 3 kali masing-masing 50 ml toluen. Tambah hasil pembilasan ke dalam hasil saringan dan tambah dengan toluen sampai batas volume 1000 ml. Lewatkan larutan dengan nitrogen bebas karbon dioksida selama 5 menit.

**Pembakuan.** Pada 10 ml dimetilformamid, tambah 0,05 ml biru timol 0,3 % b/v dalam metanol. Titrasi dengan tetrabutylamonium hidroksida sampai terbentuk warna biru. Segera tambah 0,2 g asam benzoat, aduk dan titrasi dengan tetrabutylamonium hidroksida sampai warna biru tetap. Setiap ml tetrabutylamonium hidroksida 0,1 M setara dengan 12,21 mg  $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2$ .

#### Timbal (II) nitrat 0,05 M

Tiap 1000 ml larutan mengandung 16,56 g  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  (BM: 331,2)

**Pembuatan larutan 0,05 M.** Larutkan dan encerkan 16,56 g timbal (II) nitrat dalam air sampai batas volume 1000,0 ml.

**Pembakuan.** Pada 50 ml larutan, tambah 300 ml air. Lakukan dengan metode titrasi kompleksometri. Setiap ml dinatrium edetat 0,1 M setara dengan 33,12  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ .

## Pembakaran Labu Oksigen

### Peralatan

Labu iodium kapasitas antara 300 ml dan 500 ml. Pada sumbat labu, dileburkan pada salah satu ujung kawat platina panjang 13 cm, diameter 1 mm. Pada ujung lain kawat platina dilekatkan kasa platina yang digunakan untuk memegang zat uji. Kasa platina berukuran lebar lebih kurang 2 cm dan panjang 1,5 cm dan memenuhi ukuran pengayak no 24.

### Prosedur

Zat uji dalam kertas saring, panjang lebih kurang 5 cm, lebar lebih kurang 3 cm. Masukkan hati-hati bungkusannya ke dalam kasa platina dan sisipkan ujung lembar pita kertas saring. Hembuskan oksigen ke dalam labu. Basahkan mulut labu dengan air, isikan cairan penyerap yang tertera pada masing-masing monografi ke dalam labu. Isikan oksigen ke dalam labu, nyalakan ujung pita kertas saring. Masukkan segera. Sumbat

labu, tekan dengan kuat. Jika nyala mulai membesar, balikkan labu dengan hati-hati sampai cairan menjadi penyekat tanpa mengakibatkan jatuhnya zat yang belum terbakar sempurna. Segera setelah pembakaran sempurna, kocok labu dengan kuat selama 5 menit. Teteskan beberapa ml air disekitar sumbat, buka sumbat dengan hati-hati, bilas sumbat, kawat platina dan sisi labu dengan air. Lanjutkan pengujian menurut cara yang tertera pada masing-masing monografi.

Sejumlah zat uji sebelum ditimbang lebih dahulu digerus halus dan dicampur sampai homogen, timbang sejumlah zat uji seperti yang tertera pada masing-masing monografi. Tempatkan zat uji cair pada kertas saring, dengan berat 15 mg dalam kapsul sambil menyisipkan sehelai kertas saring. Letakan dengan baik kapsul pada kasa platina.

## Pemeriksaan Steroid

Pemeriksaan steroid meliputi identifikasi steroid, kemurnian steroid, uji terhadap steroid asing, penetapan kadar dan penetapan kadar steroid tunggal.

### Identifikasi

**Larutan standar.** Larutkan standar steroid yang sesuai dalam campuran 9 volume kloroform dan 1 volume metanol sampai konsentrasi 2,5 mg/ml.

**Larutan uji.** Buat larutan uji menggunakan sejumlah zat atau hasil uji sesuai yang tertera pada masing-masing monografi dengan cara dan pelarut yang sama seperti pembuatan larutan standar sampai konsentrasi 2,5 mg/ml.

### Prosedur

Lakukan metode kromatografi lapis tipis seperti yang tertera pada kromatografi, menggunakan silika gel G sebagai zat penjerap. Rendam lempeng kromatografi kering dalam bejana kromatografi mengandung larutan pengembang seperti yang tertera pada masing-masing monografi. Biarkan pelarut merambat sampai tepi atas, angkat lempeng, biarkan pelarut menguap, gunakan lempeng dalam waktu 7 jam.

Kecuali dinyatakan lain, totolkan terpisah masing-masing 2 µl (1) larutan uji, (2) larutan standar dan (3) campuran larutan uji dan larutan standar dengan volume yang sama. Elusi dengan fase gerak seperti yang tertera pada monografi dengan arah sama. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Panaskan pada suhu 120°C selama 15 menit, semprot lempeng dalam keadaan panas dengan asam sulfat 10% v/v dalam etanol (95%).

Panaskan pada suhu 120°C selama 10 menit, dinginkan. Periksa bercak dengan cahaya ultraviolet (366 nm). Bercak utama larutan (1) sesuai dengan bercak utama larutan (2). Bercak larutan (3) merupakan bercak tunggal kompak. Pelarut yang digunakan:

1. Campuran 1 volume formaldehid dan 9 volume aseton

2. Campuran 1 volume propilenglikol dan 9 volume aseton
3. Campuran 1 volume parafin cair dan 9 volume petroleum eter

Fase gerak/larutan pengembang :

- A. Kloroform
- B. Campuran 3 volume toluen dan 1 volume kloroform.
- C. Toluena.
- D. Campuran 4 volume sikloheksan dan 1 volume toluen
- E. Campuran sikloheksan dan petroleum eter dengan volume yang sama.
- F. Campuran 2 volume asam asetat dan 3 volume air

### Kemurnian

**Larutan standar.** Timbang standar seperti yang tertera pada masing-masing monografi, larutkan dalam campuran etanol (95%) dan kloroform dengan volume yang sama sampai konsentrasi 8 mg/ml.

**Larutan uji.** Gunakan larutan uji seperti yang tertera pada monografi.

### Prosedur

Lakukan dengan metode kromatografi lapis tipis seperti yang tertera pada kromatografi, menggunakan :

**Lempeng.** Silika gel GF<sub>254</sub> atau yang sesuai.

**Fase gerak.** Seperti yang tertera pada monografi. Bagi lempeng menjadi 3 daerah yang sama, bagian kiri untuk larutan uji, bagian kanan untuk larutan standar sampai berupa garis dengan jarak 2,5 cm dari tepi bawah pada lempeng. Angkat lempeng dan keringkan di udara. Periksa dengan cahaya ultraviolet (254 nm). Tandai bercak utama masing-masing larutan dan daerah blanko yang sesuai. Pindahkan secara kuantitatif setiap bercak ke dalam tabung sentrifus 50 ml bersumbat, tambah masing-masing dengan 25,0 ml etanol absolut, kocok selama 2 menit, sentrifus selama 5 menit dengan 1500 rpm. Ukur serapan pada panjang gelombang seperti yang tertera pada monografi.

## Uji Terhadap Steroid Asing

### Prosedur A

**Larutan standar.** Larutkan standar steroid yang sesuai dalam campuran 9 volume kloroform dan 1 volume metanol sampai konsentrasi 15 mg/ml.

**Larutan uji.** Buat larutan uji menggunakan sejumlah zat atau hasil pengerjaan sesuai yang tertera pada masing-masing monografi, dengan cara dan pelarut seperti pembuatan larutan standar sampai konsentrasi 15 mg/ml.

**Penetapan.** Lakukan pengujian dengan cara kromatografi lapis tipis seperti yang tertera pada kromatografi, menggunakan silika gel dan campuran 77 bagian diklormetan, 15 bagian eter, 8 bagian metanol dan 1,2 bagian air, sebagai larutan pengembang. Totolkan

terpisah masing-masing 1 µl (1) larutan uji, (2) larutan standar, (3) 0.03% b/v dalam campuran 9 volume kloroform dan 1 volume metanol, masing-masing prednisolon, prednison dan kortison asetat. Angkat lempeng, keringkan di udara sampai pelarut menguap, panaskan pada suhu 105°C selama 10 menit, dinginkan, semprot dengan larutan biru tetrazolium basa. Bercak utama larutan (1) sesuai pada jarak, warna, dan intensitas dengan bercak utarna larutan (2). Bercak tambahan larutan (1) tidak lebih intensif dari bercak larutan (3).

#### Prosedur B

**Larutan standar.** Buat larutan standar dan larutan uji dengan cara yang sama dan dengan kadar sama seperti yang tertera pada cara A.

**Penetapan.** Lakukan pengujian dengan cara kromatografi lapis tipis seperti yang tertera pada kromatografi, menggunakan silika gel G dan campuran 95 volume etilenklorida, 5 volume metanol dan 0,2 volume air sebagai larutan pengembang. Totolkan terpisah 1 µl (1) larutan uji, (2) larutan standar, (3) 0,03% b/v dalam campuran 9 volume kloroform dan 1 volume metanol, masing-masing prednison, prednison asetat, kortison asetat dan doksikorton asetat. Lanjutkan pengujian menurut cara yang tertera pada prosedur A.

### Penetapan Kadar Steroid

Prosedur berikut digunakan untuk penetapan kadar steroid yang mempunyai gugusan mereduksi seperti α-keton.

**Larutan standar.** Timbang standar seperti yang tertera pada monografi yang sebelumnya telah dikeringkan menurut cara yang tertera pada monografi, larutkan dalam etanol (95%). Lakukan pengenceran bertingkat dengan etanol (95%) sampai konsentrasi 10 µg/ml. Pipet 20 ml larutan ke dalam labu erlenmeyer 50 ml bersumbat kaca.

**Larutan uji.** Buat larutan uji menurut cara yang tertera pada monografi.

#### Prosedur

Pada 2 labu masing-masing mengandung 20,0 ml larutan standar dan 20,0 ml larutan uji dan pada labu ketiga mengandung 20,0 ml etanol (95%) sebagai blanko, tambah 2,0 ml larutan (50 mg biru tetrazolium dalam 10 ml etanol (95%)). Kemudian pada masing-masing labu, tambah 2,0 ml campuran 1 volume tetrametilanium hidroksida dan 9 volume etanol (95%), aduk, biarkan dalam gelap selama 90 menit. Segera ukur serapan larutan standar, dan larutan uji pada panjang gelombang 525 nm. Hitung kadar steroid dengan rumus seperti yang tertera pada masing-masing monografi.

### Penetapan Kadar Steroid Tunggal

Prosedur berikut digunakan untuk penetapan kadar steroid yang telah dipisahkan dari steroid asing sejenis dan zat lain, dengan cara kromatografi lapis

tipis menggunakan lempeng silika gel dengan zat berfluoresensi. Panaskan lempeng pada suhu 105°C selama 1 jam, simpan dalam desikator.

**Pelarut A.** Campur 180 volume metilen klorida dengan 16 volume metanol.

**Pelarut B.** Campur 4 volume kloroform dengan 1 volume aseton.

**Larutan standar.** Timbang standar seperti yang tertera pada monografi yang sebelumnya dikeringkan pada suhu 105°C selama 3 jam dan ditimbang. Larutkan dalam campuran kloroform dan etanol (95%) dengan volume yang sama, sampai konsentrasi 2 mg/ml.

**Larutan uji.** Buat larutan uji seperti yang tertera pada monografi.

#### Prosedur

Bagi lempeng menjadi 3 daerah yang sama, daerah kiri dan kanan masing-masing untuk larutan uji dan larutan standar dan bagian tengah untuk blanko. Totolkan terpisah masing-masing 200 µl larutan uji dan larutan standar sampai berupa garis dengan jarak 2,5 cm dari tepi bawah lempeng. Keringkan lempeng dengan aliran udara. Dengan menggunakan pelarut seperti yang tertera pada monografi, letakan dalam bejana kromatografi yang sesuai yang telah dijenuhkan, sampai pelarut merambat sejauh 15 cm di atas garis awal. Angkat lempeng, uapkan pelarut, periksa pita utama larutan standar dengan lampu ultraviolet. Tandai pita juga pita yang sesuai dari larutan uji dan blanko pada lempeng. Pindahkan silika gel dari masing-masing pita secara terpisah, ke dalam tabung sentrifus 50 ml bersumbat kaca. Pada masing-masing tabung tambahkan 25,0 ml etanol (95%) dan kocok selama 2 menit. Sentrifus selama 5 menit, pipet 20 ml supernatan dari masing-masing tabung ke dalam labu 50 ml bersumbat kaca, tambahkan 2,0 ml larutan yang dibuat dengan melarutkan 50 mg biru tetrazolium dalam 10 ml metanol, campur. Lanjutkan seperti yang tertera pada penetapan kadar steroid mulai dari "kemudian pada masing-masing labu tambahkan.....".

### Penetapan Aktivitas Enzim

#### α-Amilase dan β-Amilase

##### Prinsip

Iodin kompleks dengan kanji akan memberikan warna yang akan terabsorbsi pada panjang gelombang 620 nm.

##### Aktivitas

Satu unit amilase (AU) setara dengan 1 mg kanji/ menit/ g enzim.

##### Kondisi

- Suhu: 37°C
- pH: 7, 2
- Waktu reaksi: 30 menit
- Konsentrasi: ion natrium 0,6 % b/b



**Peralatan**

- Penangas air 37°C
- Spektrofotometer
- Vortex mixer

**Pereaksi**

- Kanji (lintner)
- Kalium fosfat monobasa anhidrat
- Natrium fosfat dibasa anhidrat
- Natrium klorida
- Asam hidroklorida
- Kalium iodida
- Iodium
- Larutan
- Catatan: toleransi pH = 0,05
- **Substrat kanji.** Larutkan 12 g kanji dalam 75 ml air, masukan ke dalam labu erlenmeyer 1000 ml, tambah 300 ml air mendidih, dididihkan selama 3 menit, dinginkan dengan bantuan air yang mengalir. Pindahkan ke dalam labu 500 ml, tambah air sampai volume 500 ml. Periksa adanya material gelatin. Bila ada, tidak boleh digunakan. Buat larutan segar setiap minggu.
- **Dapar fosfat 0,2 M pH 7,2.** Larutkan 7,62 g kalium fosfat monobasa anhidrat dan 20,45 g natrium fosfat dibasa anhidrat dalam 1000 ml air, atur pH 7,2 dengan NaOH 1 M.
- **Natrium klorida 0,5 M.** Larutkan dan encerkan 29,227 g dalam air sampai batas volume 1000 ml.
- **Asam hidroklorida 1 M** Larutkan dan encerkan 36,5 g dalam air sampai batas volume 1000 ml.
- **Indikator iodin.** Larutkan 11 g kalium iodida dalam 150 ml air, tambah 5,5 g iodin, aduk dan tambah air sampai batas volume 250 ml, larutan harus segar.
- **Larutan uji.** Larutkan zat uji dalam 100 ml dapar fosfat 0,2 M pH 7,2, aduk.

**Prosedur**

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan: Pada 5 ml kanji ke dalam tabung uji untuk hidrolisa sampel dan non hidrolisa blanko. Pipet 5 ml air ke dalam tabung uji dan blanko. Tambah masing-masing dengan 3 ml dapar fosfat dan 1 ml natrium klorida. Aduk selama 15 detik dalam penangas air pada suhu 37°C selama 10 menit. Tambah 1 ml larutan uji, aduk selama 15 menit. Inkubasi selama 30 menit. Tambah 2 ml asam hidroklorida 1 M, aduk selama 15 detik. Pada 1 ml, tambah 200 ml air dan 2,5 ml asam hidroklorida 1 M dan 1 ml standar iodin, aduk. Encerkan dengan air sampai volume 250 ml dan aduk. Untuk non hidrolisa dan blanko lakukan seperti zat uji hidrolisa, dengan pengecualian sebagai berikut ; tambah 1 ml larutan enzim ke dalam tabung uji dilakukan setelah penambahan 2 ml asam hidroklorida 1 M dan campur. Prosedur sama seperti langkah ke tujuh. Ukur pada panjang gelombang 620 nm dengan air sebagai blanko. Jika sampel hidrolisa sama rendah dengan blanko, lakukan uji ulang dengan menggunakan sedikit enzim.

**Perhitungan:**

$$\text{AU/gram} = \text{mg kanji tercerna} / 30 \text{ menit} / (\text{gram enzim} \times d) \text{ untuk } \beta\text{-amilase, dan; AU} / \text{gram} \times 1000$$

dimana:

$$d = \text{faktor pengencer mg kanji tercerna} = [(\text{ANH AH})/(\text{ANH AB})] \times 24 \text{ mg kanji/ml} \times 5 \text{ ml}]$$

dimana:

ANH = nilai serapan sampel non hidrolisa.

AH = nilai serapan sampel hidrolisa.

AB = nilai serapan blanko.

24 mg kanji adalah konsentrasi larutan uji.

5 ml adalah jumlah larutan yang digunakan dalam larutan uji.

Untuk pengenceran digunakan sesuai dengan metode, untuk persamaan pengurangan digunakan :

$$\text{AU} = 400 [(\text{ANH AH})/(\text{ANH AB})] / \text{gram enzim.}$$

**Protease****Prinsip**

Asam amino dan peptida terlarut, yang diproduksi dari hasil hidrolisa protease terhadap protein, dapat diukur nilai serapannya pada panjang gelombang 275 nm.

**Aktivitas**

Satu bahan aktif protease didefinisikan sebagai 1 µg L-Tirosin/menit/g enzim.

**Kondisi**

- Suhu : 37°C
- pH : 7,0
- Waktu reaksi : 30 menit

**Peralatan**

- Penangas air 37°C
- Spektrofotometer
- Vortex mixer
- Wrist action shaker
- Magnetik stirer

**Pereaksi**

- Kasein,
- Tris (hidroksimetil) aminometan, tris,
- Asam triklorasetat (TCA)
- Natrium asetat,
- Asam asetat glasial
- Larutan
- Catatan: toleransi pH adalah ±0,05.
- **Kasein substrat.** Dispersikan 7 g casein dalam 500 ml larutan 6,05 g (0,05 M) tris dan 8,0 ml asam hidroklorida 1 M, panaskan sampai mendekati titik didih selama 30 menit, dinginkan pada suhu kamar, atur pH 7,0 dengan asam hidroklorida 0,2 M (±140 ml)]. Tambah air sampai batas volume 1000 ml.
- **Pelarut.** Larutkan 12,1 g tris dalam 500 ml air, tambah 90 ml asam hidroklorida 1 M. Atur pH 7,0 dengan asam hidroklorida 1 M atau NaOH 1 M.

- **TCA.** Larutkan 18,0 g TCA dan 19,0 g natrium asetat dalam 500 ml air, tambah 20 gram asam asetat glasial, dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml
- **Larutan uji.** Larutkan zat uji dengan pelarut.

### Prosedur

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan: Siapkan enzim kering, tambah 10 ml larutan kasein substrat ke dalam masing-masing zat uji dan blanko. Panaskan dalam penangas air dengan suhu 37°C selama 5 menit. Siapkan larutan enzim. Tambah 2 ml larutan enzim ke dalam zat uji, aduk selama 15 detik, kemudian selama 30 detik. Tambah 2 ml pelarut ke dalam blanko. Inkubasi selama 30 menit, tambah dengan 10 ml TCA. Aduk selama 15 detik dan panaskan dalam penangas air pada suhu 37°C selama 30 menit. Saring dan ukur serapan pada panjang gelombang 275 nm.

### Perhitungan

Tiap nilai PU dihitung dari:

$$PU = [(mcg \text{ L Tirosin/ml}) \times 22 \text{ ml} / 30 \text{ menit} / (g \text{ enzim} \times d)]$$

dimana:

mcg adalah L Tirosin yang ditentukan dengan kurva kalibrasi.

22 ml adalah volume dalam campuran reaksi.

30 menit adalah waktu cerna.

d adalah larutan dalam enzim, 2 ml.

Pengenceran disesuaikan dengan metode, persamaan pengurangan untuk :

$$PU = 36,67 (mcg \text{ L Tirosin}) / \text{menit} / g \text{ enzim.}$$

## Selulase

### Prinsip

Enzim selulase menghidrolisis selulosa menjadi berat molekul yang rendah karena pengurangan karbohidrat.

### Aktivitas

Satu unit selulase (CU) adalah jumlah enzim yang terbentuk dari pengurangan jumlah karbohidrat yang setara dengan 1  $\mu$ mol glukosa/menit.

### Kondisi

- Suhu : 40°C
- pH : 4,8
- Waktu reaksi: 20 menit

### Alat

- Spektrofotometer
- Penangas air pada suhu 40°C dan 96°—100°C
- Vortex mixer
- Magnetik stirer

### Pereaksi

- Karboksimetil selulosa, CMC 71Y
- Natrium asetat,
- Asam asetat glasial,

- Trinatrium fosfat
- Kalium besi sianida
- Fosfor pentoksida
- $\alpha$ -D-(+) Glukosa,
- Larutan
- Catatan: toleransi pH  $\pm 0,05$  untuk semua larutan yang telah ditentukan.
- **Dapar asetat 0,1 M pH 4,8.** Larutkan 9,53 g natrium asetat anhidrat dalam 500 ml air, tambah 4,92 g asam asetat. Encerkan dengan air sampai batas volume 2000 ml. pH 4,80, simpan pada suhu 25°C ( tahan 4 minggu).
- **CMC substrat 10 g/l.** Pada 800 ml dapar asetat 0,1 M pH 4,8, tambah 10 g CMC perlahan-lahan sambil di aduk. Panaskan pada suhu 80°—90°C sampai jernih, dinginkan dan encerkan dengan dapar asetat 0,1 M pH 4,8 sampai batas volume 1000 ml
- **Dapar fosfat 0,25 M pH 12,3.** Larutkan dan encerkan 95 g trinatrium fosfat dalam air sampai batas volume 1000 ml. Atur pH 12,3.
- **Kalium besi sianida pH 11,8.** Larutkan dan encerkan 1,6 g kalium besi sianida dan 14,0 g trinatrium fosfat dalam air sampai batas volume 500 ml. Atur pH 11,8.
- **Larutan glukosa 200 mg/l.** Larutkan dan encerkan 200 mg glukosa bebas air (oven 60°C dalam fosfor pentoksida selama 24 jam) dalam air sampai batas volume 1000 ml.
- **Larutan uji.** Larutkan zat uji dengan dapar asetat 0,1 M pH 4,8.
- **Sellulas.** Larutkan dan encerkan 0,030 g sellulas dalam dapar asetat sampai batas volume 100 ml.
- **Sellulase basa.** Larutkan 0,3 g sellulase dalam dapar asetat. Pada 10 ml larutan, encerkan dengan dapar asetat sampai batas volume 100 ml.

### Prosedur

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan: atur penangas air pada suhu 40°C dan penangas air kedua pada suhu 100°C. Masukkan CMC substrat ke dalam tabung erlenmeyer. Pada 3 ml, masukkan tabung erlenmeyer ke dalam penangas air pada suhu 100°C selama 10—15 menit untuk mencapai suhu reaksi. Pipet 1 ml larutan enzim ke dalam tabung uji, ulangi 2 kali. Tabung satu ditempatkan di atas penangas air pada suhu 40°C selama 5 menit. Pipet 1 ml air dalam tabung uji sebagai glukosa blanko. Pipet 2 ml kalium besi sianida pH 11,8 ke dalam zat uji dan glukosa blanko. Tambah 3 ml CMC substrat yang telah dihangatkan, aduk selama 15 detik, kemudian masukkan ke dalam penangas air. Setelah 30 detik, inkubasi selama 20 menit, tambah kalium besi sianida pH 11,8. Aduk selama 15 detik, tambah 2 ml larutan kalium besi sianida untuk masing-masing tabung, aduk selama 15 detik. Masukkan tabung uji ke dalam penangas air pada suhu 100°C selama 10 menit. Setelah 10 menit, dinginkan semua tabung pada suhu kamar selama 20 menit. Ukur pada panjang gelombang 420 nm dengan menggunakan air sebagai blanko.

**Perhitungan**

$$\text{CU/gram} = \frac{F(\text{GI}) \times (\text{B S}) \times 10001}{[\text{180,16} \times 20 \times (\text{gram/ml})]}$$

dimana:

B = nilai serapan sampel blanko

9 = nilai serapan sampel

1000 = konversi dari mg ke mcg

180,16 = berat molekul dari glukosa

20 = waktu inkubasi

$(\text{gram/ml}) = (\text{gram enzim}/100 \text{ ml}) \times (10 \text{ ml}/100 \text{ ml}) = \text{gr enzim}/1000$

F(GI) = faktor glukosa yang dihitung dari :

$F(\text{GI}) = (\text{mg glukosa}/L / (B' S'))$ ,

dimana

mg glukosa /L = ditentukan dengan pengukuran

B' = nilai serapan dari glukosa sampel

S' = nilai serapan dari larutan glukosa blank.

Untuk pelarut perhitungan residu adalah:

$$\text{CU/gram} (277,53 \times F(\text{GI}) \times (\text{B S}))/\text{gram enzim.}$$

**Spesifikasi**

- Selluslas : 1500 CU/gram
- Sellulase basa : 150 CU/gram
- Zat uji : 5 CU/gram

**Pektinase****Prinsip**

Pada hidrolisis pektin, polisakarida terbentuk dari unit galaktosa, oleh enzim pektinase yang diikuti dengan reduksi kekentalan larutan pektin.

**Aktivitas**

Satu unit pektin (PCU) adalah jumlah enzim yang merubah kekentalan,  $1/\text{nsp} = 0,000015$ , dari larutan pektin.

**Kondisi**

- Suhu: 30°C
- pH: 3,7
- Waktu reaksi: 15 menit
- Kekentalan larutan pektin: 20 mpas

**Peralatan**

- Penangas air pada suhu 30°C
- Pengatur waktu
- Viskometer dengan kapiler II dan K = 0,1000, American Scientific Co. Cat. No. P2902 200

**Pereaksi**

- Pektin
- Asam sitrat
- Alkohol absolut
- Kalsium klorida dihidrat
- Larutan
- **Kalsium klorida 1 M.** Larutkan dan encerkan 73,51 g kalsium klorida dalam air sampai batas volume 1000 ml.

- **Kalsium klorida 0,02 M.** Encerkan 20 ml larutan kalsium klorida 1 M dengan air sampai batas volume 1000 ml .
- **Dapar sitrat pH 3,7.** Larutkan 2,10 g asam sitrat dalam 50 ml air bebas mineral, tambah 14,2 ml NaOH 1 M dan 10 ml kalsium klorida 1 M. Encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml. Atur pH 3,7.
- **Larutan pektin.** Larutkan 3 g pektin dalam 5 ml alkohol secara perlahan-lahan, tambah air 100 ml, aduk selama 30 menit, tambah 40 ml dapar sitrat pH 3,7, dan encerkan dengan air sampai batas volume 200 ml. Simpan pada suhu 4°C selama 16 jam, saring dengan Whatman GF/B.
- **Larutan uji.** Larutkan zat uji dalam 100 ml kalsium klorida 0,02 M.
- **Pektinase.** Larutkan 0,70 g pektinase dalam larutan kalsium klorida sampai batas volume 100 ml. Pada 2 ml, encerkan dengan kalsium klorida sampai batas volume 100 ml.
- **Pektinase basa.** Larutkan 1,50 g dalam 100 ml larutan kalsium klorida. Encerkan 2 ml larutan dengan larutan kalsium klorida sampai batas volume 100 ml.

**Prosedur****(t) Inisial**

Pektin: Pada 15 ml larutan pektin yang telah dihangatkan selama 20 menit dalam penangas air pada suhu 30°C. Pada akhir pemanasan, tambah dengan 2 ml larutan kalsium klorida 0,02 M, aduk. Panaskan campuran tersebut dalam viskometer selama 5 menit untuk sistem penyeimbangan pada suhu 30°C kemudian diukur laju alir (t). Laju alir sekitar 160 detik.

**(t') Uji**

Pada 15 ml larutan pekin yang dihangatkan selama 20 menit dalam penangas air pada suhu 30°C. Pada akhir pemanasan, tambah dengan 2 ml larutan uji, aduk. Inkubasi selama 8 menit, dan pindahkan ke dalam viskometer. Pengukuran dilakukan selama 15 menit setelah penambahan larutan uji.

**Perhitungan:**

Aktifitas sediaan enzim diukur dengan:

$$\text{Unit/gram} = \frac{[(\text{dl}/\text{Nsp})/0,000015]}{E}$$

dimana:

E = Jumlah enzim (g) yang digunakan dalam sediaan larutan enzim.

$$0,000015 = I/\text{Nsp}(t')$$

$$\text{Nsp} = \frac{[(\text{kekentalan larutan})/(\text{kekentalan air})]}{1}$$

dimana:

kekentalan air adalah = 0,8007 cP

kekentalan larutan adalah = (laju alir dT) x K x D

dimana:

K= faktor kapiler untuk kapiler II=0,1000

D= kerapatan reaksi campuran=1,003

dT= Hagenbach Coutte koreksi untuk kapiler II

Perhitungan untuk viskositas larutan menjadi

$$N_{sp}(t) = [(t \times O, 1000 \times l, 003) / 0,8007] \cdot I = 0,1253t \cdot I$$

untuk t';  $1/N_{sp}(t') = [(t' \times O, 1000 \times l, 003) / 0,8007] \cdot I = 0,1253T' \cdot I$

$$dl/N_{sp} = fl / (0,1253t' \cdot I) \quad [l / (0,1253t \cdot I)]$$

Pengganti persamaan terakhir dalam persamaan perhitungan untuk hasil aktivitas adalah sebagai berikut:

$$\text{Unit/gram} = \left( \frac{1}{(0,1253t' \cdot I)} \right) \cdot \left( \frac{1}{(0,1253t \cdot I)} \right) / 0,000015/E$$

### Spesifikasi

- Pektinase 10.000 PCU/gram
- Pektinase basa 5.000 PCU/gram
- Zat uji 250 PCU/gram

## β-Glukanase

### Prinsip

Hidrolisis β-glukan oleh β-glukanase menghasilkan glukosa dan reduksi karbohidrat yang ditentukan dengan metode Somogyi-Nelson.

### Aktivitas

Satu unit β-glukanase (BGU) adalah jumlah enzim yang terbentuk dari sejumlah reduksi karbohidrat setara dengan 1 μmol glukosa/menit.

### Kondisi

- Suhu : 30°C
- pH : 7,5
- Waktu reaksi : 30 menit
- Konsentrasi substrat : 0,5 % β-glukan.

### Peralatan

- Spektrofotometer
- Penangas air pada suhu 30°C
- Vorteks
- Pengaduk magnetik

### Pereaksi

- β-glukan
- Glukosa
- Natrium fosfat dibasa trihidrat
- Kalium fosfat anhidrat
- Ammonium molibdat
- Asam sulfat
- Natrium arsenat heptahidrat
- Kalium natrium tartrat (*Rochelle salt*)
- Natrium hidroksida 1 M
- Tembaga sulfat
- Natrium sulfat anhidrat
- **Larutan β-glukan 1,0%**. Larutkan 250 mg β-glukan dalam 25 ml dapar sorenson 1/30 pH 7,5 diatas lempeng panas pada suhu 60°C sambil diaduk, dinginkan dan atur pH 7,5 (larutan harus segar).
- **Dapar Sorenson 1/30 pH 7,5**. Larutkan dan encer-

kan 7,61 g natrium fosfat heptahidrat dan 0,67 g kalium fosfat dalam air sampai batas volume 1000 ml (larutan tahan 1 bulan).

- **Pereaksi Nelson's**. Larutkan 50 g ammonium molibdat dalam 900 ml air, tambah 42 ml asam sulfat pekat, aduk. Tambah 6,0 g natrium arsenat heptahidrat dan encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml. Simpan pada suhu 37°C Selama 24—48 jam. Terbentuk arutan kuning (larutan tahan 14 hari).
- **Pereaksi Somogyi's**. Larutkan 52,84 g kalium fosfat dibasa heptahidrat dan 40,0 g kalium natrium tartrat tetrahidrat dalam 500 ml air, tambah 100 g natrium hidroksida 1 M, aduk. Tambah 8,0 g tembaga sulfat pentahidrat. Kemudian larutkan 180 g natrium sulfat anhidrat dalam larutan tersebut (larutan tahan 14 hari).
- **Larutan glukosa 1,5%**. Larutkan 1,50 g glukosa dengan air sampai batas volume 100 ml (larutan tahan 2 bulan).
- **Larutan glukosa 0,150 mg/ml**. Pindahkan 1,0 ml larutan glukosa yang sebelumnya dihangatkan ke dalam labu 100 ml, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml
- Larutan enzim
- **Keremiks**. Larutkan 0,20 g keremiks dalam air sampai batas volume 100 ml. Pipet 10 ml dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml.
- **Karebasa**. Larutkan 1,3 g karebasa dalam air sampai batas volume 100 ml, biarkan selama 5 menit. Encerkan 10 ml larutan dengan air sampai batas volume 100 ml.
- **Larutan uji**. Larutkan zat uji dalam air.

### Prosedur

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan: Pipet 1 ml β-glukan dalam tabung uji dan tempatkan dalam penangas air pada suhu 37°C selama 5 menit. Untuk enzim blanko ke dalam tabung uji tambah 1 ml dapar fosfat 0,33 M dan tempatkan dalam penangas air pada suhu 37°C selama 5 menit. Tambah 1 ml larutan enzim ke dalam tabung uji, aduk selama 15 detik dan tempatkan ke dalam penangas air pada suhu 37°C selama 30 menit.

Blanko: Pipet 1 ml β-glukan dan 1 ml air dalam tabung uji, aduk selama 15 detik. Pipet 2 ml larutan glukosa blanko: Pipet 2 ml air dalam tabung uji. Pada akhir inkubasi, tambah 2 ml larutan tembaga pada masing-masing tabung, termasuk blanko, glukosa 0,15 mg/ml, dan glukosa blanko. Tempatkan semua tabung dalam penangas air pada suhu 37°C selama 20 menit. Dinginkan pada suhu kamar. Tambah 2 ml pereaksi Nelson's. Aduk sampai larut. Tambah dengan 40 ml air, aduk selama 15 detik. Ukur serapan pada panjang gelombang 520 nm.

### Perhitungan:

$$\text{BGU/gram} = (G \times V) / (0,180 \times w \times l \times 30)$$

dimana :

$G = (\text{mg glukosa/ml zat uji} - \text{mg glukosa/ml substrat}) / (\text{mg glukosa/ml zat uji standar} / (\text{abs glukosa} - \text{abs indikator air})) \times (\text{abs zat uji} - \text{abs enzim blanko} - \text{abs. substrat})$

$(\text{mg glukosa/ml substrat}) = [(\text{mg glukosa/ml} - 0,15 \text{ mg/ml}) / (\text{abs glukosa} - 0,15 \text{ mg/ml} - \text{abs indikator air})] \times \text{abs substrat}$

V = volume (ml) enzim terlarut.

180 = berat molekul glukosa

0,180 = 180/(1000  $\mu\text{mol/mol}$ )

w = Berat zat uji (g)

1 = Volume larutan uji yang digunakan untuk analisis

30 = waktu reaksi (menit)

### Spesifikasi

- |            |              |
|------------|--------------|
| • Keremiks | 300 BGU/gram |
| • Kerebasa | 45 BGU/gram  |
| • Zat uji  | 33 BGU/gram  |

## Pululanase

### Prinsip

Pululan adalah polimer D glukosa linear yang terdiri dari unit unit maltotriosil yang bergabung dengan ikatan  $\alpha$ -1-6 glukosidik.

### Aktivitas

Satu unit pululan (PLU) adalah jumlah enzim yang menghidrolisis pululan dan jumlah reduksi karbohidrat sama dengan 1  $\mu\text{mol}$  glukosa/menit.

### Kondisi

- Konsentrasi pululan : 0,2%
- Suhu : 40°C
- pH : 5,0
- Waktu reaksi: 30 menit

### Peralatan

- Spektrofotometer
- Penangas air pada suhu 40°C dan 96°—100°C
- Vorteks
- Pengaduk magnetik

### Pereaksi

- Pululan
- Asam sitrat
- Glukosa
- Natrium fosfat dibasa trihidrat
- Kalium natrium tartrat
- Tembaga sulfat
- Natrium sulfat anhidrat
- Amonium molibdat
- Asam sulfat
- Natrium arsenat heptahidrat
- Trestatin A dari Kemin Industri
- Larutan
- Dapar sitrat 0,05 M pH 5 ;
- Pululan substrat 0,4% b/b
- Pereaksi tembaga Semogyi's
- Pereaksi Nelson's

- Larutan stok glukosa
- Glukosa 0,15 mg/ml,
- Larutan trestatin A
- Larutan enzim: dekstrozim, deksbasa

### Prosedur

Lakukan dengan metode spektrofotometer, menggunakan: Pipet 1 ml pululan dan tambah 50  $\mu\text{l}$  larutan trestatin ke dalam tabung uji, volume tabung uji harus 10 ml. Letakkan tabung uji ke dalam penangas air pada suhu 40°C selama 5 menit. Tambah 1 ml larutan uji, aduk selama 15 detik, sumbat dan inkubasikan ke dalam penangas air pada suhu 40°C selama 30 menit.

Larutan blanko: Satu tabung uji yang mengandung 1 ml pululan, dibiarkan di dalam penangas air selama 30 menit sebelum penambahan dengan larutan uji. Pada akhir waktu inkubasi. tambah 2 ml pereaksi Somogyi's dan aduk selama 15 detik. Dinginkan pada suhu ruang. Tempatkan tabung uji pada penangas air pada suhu 100°C selama 20 menit.

Dinginkan tabung uji pada suhu ruang. Tambah dengan 2 ml pereaksi Nelson's collor. Aduk sampai larut. Tambah 2 ml air dan aduk selama 15 detik. Ukur serapan pada panjang gelombang 520 nm. Penentuan bidang miring (slope) :

$a = d (\text{abs}) / d (\text{konsentrasi})$ .

Slope dapat juga ditentukan dengan menggunakan analisa regresi linier.

### Perhitungan:

$$\text{PLU/g} = [(\text{Abs zat uji} - \text{Abs blanko}) \times 2 \times 1.000.000 \times \text{VI} / [\text{a} \times 1000 \text{ g} \times 180 \times 30 \times 1,0]$$

dimana :

2 = Volume campuran reaksi (ml)

180 = berat molekul glukosa

30 = waktu reaksi (menit)

a = bidang miring kurva glukosa;

g = berat zat uji (g);

V = Volume larutan uji, (V = 100 jika larutan uji dibuat sesuai dengan metode)

1,0 = Volume larutan pengaktif zat uji yang digunakan dalam reaksi (ml)

1.000.000 = faktor konversi dari  $\mu\text{mol}$  ke mol

1000 = konversi dari mililiter ke liter.

### Spesifikasi

- Dekstrozim : 62,5 PLU/gram
- Deksbasa : 9,38 PLU/gram

## Penetapan Hayati Antibiotik

Potensi antibiotik ditetapkan dengan membandingkan dosis sediaan uji terhadap dosis larutan standar yang masing-masing menghasilkan zona hambatan pertumbuhan yang sama pada biakan mikroba yang peka dan sesuai. Cara yang digunakan adalah cara lempeng atau cawan petri.

Potensi dihitung dengan rumus:

$$\log P = \frac{(UH + UL) - (SH + SL)}{(UH + SH) - (UL + SL)} \times \log 4$$

Keterangan:

P = potensi (dalam %)

SH = diameter standar kadar tinggi.

UH = diameter kadar sediaan kadar tinggi.

SL = diameter standar kadar rendah

UL = diameter sediaan kadar rendah

Untuk memperoleh SH (2—25 mm) dan SL (15—20 mm) dilakukan uji pendahuluan terhadap larutan

standar (kadar tinggi dan rendah) dengan mengatur kadar larutan mikroorganisme untuk lapisan atas sehingga diperoleh nilai tersebut.

#### **Persiapan larutan uji**

Lakukan prosedur pelarutan langsung dengan dapar fosfat yang sesuai atau bila perlu ekstraksi dengan dua jenis atau lebih pelarut yang berbeda. Jika perlu lakukan pengenceran sampai konsentrasi untuk uji.

Untuk standar tertentu (\*), penimbangan dilakukan setelah dikeringkan terlebih dahulu pada kondisi vakum dengan suhu 60°C selama 3 jam.

Tabel 1. Jenis medium uji

Medium No.	pH	Komposisi	Jumlah (g/l)
1.	6,50 ± 0,1	Pepton	10,0 g
		Sari daging	5,0 g
		Natrium klorida	2,5 g
		Agar	15,0 g
2.	7,00 ± 0,1	Pepton	10,0 g
		Sari daging	5,0 g
		Natrium klorida	2,5 g
3.	8,00 ± 0,1	Pepton	5,0 g
		Sari daging	3,0 g
		Agar	15,0 g
4.	8,00 ± 0,1	Pepton	5,0 g
		Sari daging	5,0 g
		Dinatrium hidrogen fosfat	2,0 g
		Agar	15,0 g
5.	6,50± 0,1	Pepton	6,0 g
		Sari daging	1,5 g
		Sari ragi	3,0 g
		Glukosa	1,0 g
		Agar	15,0 g
6	8,00+0,1	Pepton	10,0 g
		Sari daging	5,0 g
		Natrium klorida	2,5 g
		Agar	15,0 g
7.	6,50 ± 0,1	Pepton	10,0 g
		Sari daging	5,0 g
		Natrium klorida	2,5 g
		Glukosa	5,0 g
		Agar	15,0 g
8	8,00 ± 0,1	Pepton	6,0 g
		Sari daging	1,5 g
		Sari ragi	3,0 g
		Glukosa	1,0 g
		Agar	15,0 g
9	7,30 ± 0,1	Natrium klorida	5,0 g
		Glukosa	2,5 g
		Pancreatic digest of casein	17,0 g
		Papak digest of say bean	3,0 g
		Kalium dihidrogen fosfat	2,5 g
		Agar	15,0 g
10	7,30± 0,1	Natrium klorida	5,0 g
		Glukosa	2,5 g
		Polisorbate 80	10,0 ml
		Pancreatic digest of casein	17,0 g
		Papak digest of say bean	3,0 g
		Kalium dihidrogen fosfat	2,5 g
		Agar	15,0 g
11	7,00 ± 0,1	Pepton	10,0 g
		Sari daging	10,0 g
		Natrium klorida	5,0 g
		Agar	15,0 g

Tabel 1. Jenis medium uji (lanjutan)

Medium No.	pH	Komposisi	Jumlah (g/l)
12.	7.00 ± 0,1	Pepton	5,0 g
		Glukosa	5,0 g
		Agar	15,0 g
13	7,30 ± 0,1	Pepton	3,75 g
		Natrium klorida	1,25 g
		Sari ragi	1,25 g
		Papak digest of liver	0,625 g
		Agar	15,0 g
14	6.00 ± 0,1	Pepton	5,0 g
		Sari daging	3,0 g
		Agar	15,0 g
15.	6,00 ± 0,1	Sari ragi	2,5 g
		Glukosa	10,0 g
		Kalium dihidrogen fosfat	0,45 g
		Dikalium hidrogen fosfat	0,64 g
		Agar	15,0 g
16.	8,00 ± 0,1	Pepton	10,0 g
		Sari ragi	5,0 g
		Natrium klorida	2,5 g
		Glukosa	5,0 g
		Agar	15,0 g
17.	6,0 ± 0,1	Papak digest of say meat	3,0 g
		Agar	18,0 g
18.	5,0 ± 0,1	Glukose anhydrous	10,0 g
		Sari ragi	2,5 g
		Magnesium sulphate	50,0 g
		Natrium klorida	70,0 g
		Agar	18,0 g
19.	6,0± 0,1	Dipotassium fosfat	0,69 g
		Monopotassium fosfat	0,45 g
		Sari ragi	2,5 g
		Glukose	10,0 g
		Agar	20,0 g
20	7,0 ± 0,1	Pepton	5,0 g
		Sari daging	3,0 g
		Sari ragi	2,0 g
		Agar	15,0 g
21	8,5 ± 0,1	Pepton	6,0 g
		Sari daging	1,5 g
		Sari ragi	3,0 g
		Glukose	1,0 g
		Agar	15,0 g
22	6,5 ± 0,1	Pepton	10,0 g
		Sari daging	3,0 g
		Natrium klorida	30,0 g
		Agar	15,0 g



Table 2. Larutan dapar

Dapar No.	pH	Komposisi	Jumlah (g/l)
1.	4,5 ± 0,1	Kalium dihidrogen fosfat	13,6 g
2.	6,0 ± 0,1	Kalium dihidrogen fosfat	3,5 g
		Dinatrium hidrogen fosfat	3,0 g
3.	6,0 ± 0,1	Kalium dihidrogen fosfat	7,0 g
		Dinatrium hidrogen fosfat	6,0 g
4.	8,0 ± 0,1	Kalium dihidrogen fosfat	13,3 g
		Kalium hidroksida	6,2 g
5.	6,0 ± 0,1	Kalium dihidrogen fosfat	40,0 g
		Dikalium hidrogen fosfat	10,0 g
6.	6,0 ± 0,1	Kalium dihidrogen fosfat	80,0 g
		Dikalium hidrogen fosfat	20,0 g
7.	8,0 ± 0,1	Kalium dihidrogen fosfat	13,3 g
		Natrium klorid	100,0 g
		Kalium hidroksid	6,2 g
8.	7,0 ± 0,1	Kalium dihidrogen fosfat	6,4 g
		Dinatrium hidrogen fosfat	18,9 g
9.	8,0 ± 0,1	Tris (hidroksi metil) aminometan	6,75 g
		Asam hidroklorid 0,1 M	300,0 mL
10.	6,0 ± 0,1 (1 %)	Dikalium hidrogen fosfat	2,0 g
		Kalium dihidrogen fosfat	8,0 g
11.	8,0 ± 0,1 (0,1 M)	Dikalium hidrogen fosfat	16,73 g
		Kalium dihidrogen fosfat	0,523 g
12.	7,0 ± 0,1 (0,05 M)	Tris-HCl	6,06 g
		HCl 1 M	40,0 mL

Tabel 3. Pengenceran standar antibiotik

Jenis standar	Pelarut	Larutan stok/ml	Pelarut Sampai konsentrasi uji
Avoparsin	Air	1000 µg	1
Avilamisin	Metanol +Aseton (1:9)	1000 µg	4
Ampisilin	Dapar No. 3	1000 µg	3
Amoksisilin	Dapar No. 10	1000 µg	10
Apramisin	Air	1000 µg	6
Basitrasin *)	Dapar No. 3	1000 unit	3
Dihidrosteptomisin*)	Dapar No. 2	1000 µg	4
Dikloksasilin	Dapar No. 10	1000 µg	3
Eritromisin	Metanol 10 %	1000 µg	4
	Dapar No. 4		
Enramisin	Metanol +Air (1:9)	1000 µg	9
Flavomisin	Metanol	1000 µg	8
Fosfomisin	Dapar No. 12	1000 µg	12
Gentamisin	Dapar No. 11	1000 µg	11
Higomisin	Dapar No. 11	1000 µg	11
Josamisin	Metanol +Air (1:9)	1000 µg	Air
Kanamisin	Dapar No. 2	1000 µg	4
Kitasamisin	Air	1000 µg	4
Klortetrasiklin	Air	1000 µg	1
Kloksasilin	Dapar No. 3	1000 µg	3
Klindamisin	Air	1000 µg	8
Kolistin	Dapar No. 6	1000 µg	6
Lasalosid	Metanol	1000 µg	Metanol + Air (25:75)
Linkomisin	Dapar No. 8	1000 µg	8
Maduramisin	Metanol	1000 µg	3
Monensin	Metanol	1000 µg	Metanol +Air (1:9)
Neomisin	Dapar No. 4	1000 µg	4
Novobiosin	Metanol 10 %	1000 µg	11
	Dapar No. 11		
Narasin	Metanol	1000 µg	Metanol +Air (1:1)
Oksitetrasiklin	Air	1000 µg	1
Penisilin	Dapar No. 3	1000 unit	3
Streptomisin	Dapar No. 2	1000 µg	4
Spiramisin	Dapar No. 4	1000 µg	4
Salinomisin	Matanol	1000 µg	Air
Senduramisin	Metanol	1000 µg	Metanol + Air (3:7)
Sefaleksin	Air	1000 µg	10
Seftiofur	Dapar No. 3	1000 µg	3
Sefoperazon*)	Dapar No. 10	1000 µg	10
Tetrasiklin	Air	1000 µg	1
Tilosin	Metanol 10 %	1000 µg	4
	Dapar No. 4		
Tiamulin	Air	1000 µg	4
Tilmikosin	Metanol 10 %	1000 µg	4
	Dapar No. 4		
Virginiamisin	Metanol +Air (1:1)	1000 µg	2

Tabel 4 Jenis antibiotik, kuman uji dan pengenceran sediaan

Jenis Antibiotik	Kuman Uji	Medium No.	Dapar No.	Kadar Larutan Akhir	
				Tinggi	Rendah
Avoparsin	B. subtilis 6633	17	1	4,0 µg	1,0 µg
Avilamisin	M. luteus 10240	1	4	20,0 µg	5,0 µg
Ampisilin	B. subtilis 6633	14	3	10,0 µg	2,50 µg
Amoksisilin	B. subtilis 6633	14	1 %	10,0 µg	2,50 µg
Apramisin	B. subtilis 6633	14	Air	10,0 µg	2,50 µg
		3			
Basitrasin	M. luteus 10240	1	3	2,0 unit	0,50 unit
Dihidrosteptomisin	B. subtilis 6633	3	4	8,0 µg	2,0 µg
Dikloksasilin	B. subtilis 6633	14	3	10,0 µg	2,50 µg
Doksisiklin	M. luteus 9341	5	1	20,0 µg	5,0 µg
	K. pneumonia 10031	5	1	20,0 µg	5,0 µg
	B. cereus 11778	21	1	20,0 µg	5,0 µg
Eritromisin	M. luteus 9341	8	4	2,0 µg	0,5 µg
	S. epidermidis 12228	8	4	2,0 µg	0,5 µg
Enramisin	B. subtilis 6633	4	9	40,0 µg	10,0 µg
Flavomisin	S. aureus 6538 P	3	8	6,0 µg	1,50 µg
Fosfomisin	Proteus sp	20	12	10,0 µg	2,50 µg
Gentamisin	S. epidermidis 12228	8	11	4,0 µg	1,0 µg
Higromisin	B. subtilis 6633	3	11	200,0 µg	50,0 µg
Josamisin	B. subtilis 6633	3	Air	30,0 µg	7,50 µg
Kanamisin	B. subtilis 6633	3	4	20,0 µg	5,0 µg
Kitasamisin	B. subtilis 6633	3	4	30,0 µg	7,50 µg
Klortetrasiklin	M. luteus 9341	5	1	40,0 µg	10,0 µg
Kloksasilin	B. subtilis 6633	14	3	20,0 µg	5,0 µg
Klindamisin	M. luteus 9341	5	8	2,0 µg	0,5 µg
Kolistin	E. coli NIHJ	22	6	40,0 µg	10,0 µg
			10		
Lasalosit	B. subtilis 6633	19	MeOH-Air 25:75	20,0 µg	5,0 µg
Linkomisin	M. luteus 9341	1	8	10,0 µg	2,5 µg
Maduramisin	B. subtilis 6633	14	3	100,0 µg	25,0 µg
Monensin	B. subtilis 6633	15	MeOH-Air 1:9	20,0 µg	5,0 µg
	S. epidermidis 12228	8	4	120,0 µg	30,0 µg
Neomisin	S. aureus 6538P	6	4	120,0 µg	30,0 µg
	M. luteus 9341	5	11	20,0 µg	5,0 µg
Novabiosin	M. luteus 9341	5	11	20,0 µg	5,0 µg
Narasin	B. subtilis 6633	14	MeOH-Air 1:1	100,0 µg	25,0 µg
Oksitetrasiklin	M. luteus 9341	5	1	40,0 µg	10,0 µg
	B. cereus 11778	21	1	40,0 µg	10,0 µg
Penisilin	S. aureus 6538P	1	3	2,0 unit	0,5 unit
Streptomisin	B. subtilis 6633	3	4	8,0 µg	2,0 µg
Spiramisin	B. subtilis 6633	3	4	40,0 µg	10,0 µg
Spektinomisin	K. pneumoniae 10031	8	4	200,0 µg	50,0 µg
Salinomisin	B. subtilis 6633	14	Air	40,0 µg	10,0 µg
Senduramisin	B. subtilis 6633	18	MeOH-Air 3:7	2,5 µg	1,25 µg
Sefaleksin	B. subtilis 6633	3	10	40 µg	10 µg
Seftiofur	S. aureus 6538 P	1	3	40,0 µg	10,0 µg
Sefoperazon	P. aeruginosae 10490	5	10	100,0 µg	2,5 µg
Tetrasiklin	M. luteus 9341	5	1	40,0 µg	10,0 µg
	K. pneumoniae 10031	5	1	40,0 µg	10,0 µg
Tilosin	M. luteus 9341	8	4	10,0 µg	2,5 µg
Tiamulin	S. aureus 6538 P	5	4	20,0 µg	5,0 µg
Tilmikosin	M. luteus 9341	8	4	10,0 µg	2,50 µg
Virginamisin	M. luteus 9341	5	2	2,0 µg	0,5 µg

## Penetapan Kadar Air

Untuk bahan yang tidak dihaluskan atau tidak diserbukkan, siapkan 10 g zat uji, dengan memotong, membentuk serbuk sampai diperoleh dengan ketebalan 3 mm. Hindarkan penggunaan alat penyerbuk dengan kecepatan tinggi pada penyiapan zat uji dan harus dijaga agar tidak terjadi kehilangan air selama proses penyiapan contoh dan bagian yang diambil mewakili zat uji.

### Titrisasi Bebas Air

#### Metode I

Larutkan zat uji dalam asam asetat glasial (sebelumnya dinetralkan), jika perlu hangatkan dan dinginkan, atau buat larutan seperti yang ditentukan. Jika zat uji berupa garam asam klorida atau bromida, tambah 15 ml raksa (II) asetat. Titrisasi dengan asam perklorat 0,1 M sampai perubahan warna indikator sesuai dengan nilai maksimum  $dE/dV$  ( $E$  adalah daya elektromotif dan  $V$  adalah volume penitar) dalam titrisasi potensiometri. Jika suhu penitar pada saat penetapan ( $t_2$ ) berbeda dengan suhu penitar pada saat pembakuan ( $t_1$ ), mengalikan volume penitar yang diperlukan dengan  $[1 + 0,0011(t_2 - t_1)]$  dan hitung penetapan dari volume terkoreksi. Titrisasi potensiometri dapat dilakukan menggunakan elektroda kaca dan elektroda standar kalomel jenuh (pastikan tidak terjadi kebocoran dari larutan jembatan garam) atau gunakan elektroda kombinasi. Hubungan antara elektroda kalomel dan cairan titrisasi harus mempunyai tahanan listrik cukup rendah dan perpindahan cairan dari sisi ke sisi lain harus sedikit mungkin. Pembacaan hasil pengukuran kurang dari nol dapat dihindari dengan sumber daya elektromotif stabil yang dipasang secara seri dengan sistem elektroda. Kestabilan dapat terjadi, jika sambungan antara potensiometer dan sistem elektroda tidak dibuat sesuai dengan petunjuk pabrik.

#### Metode II

Gunakan penitar, pelarut dan indikator seperti yang tertera pada monografi. Lindungi larutan, penitar dari karbon dioksida dan lembab dari udara selama penetapan. Larutkan zat uji dalam volume pelarut yang sesuai (yang sebelumnya telah dinetralkan), jika perlu hangatkan dan dinginkan. Titrisasi sampai perubahan warna indikator sesuai dengan nilai maksimum  $dE/dV$  ( $E$  adalah daya elektromotif dan  $V$  adalah volume penitar) dalam titrisasi potensiometri. Penitar dilakukan pembakuan menggunakan pelarut dan indikator yang sama seperti yang ditentukan zat tersebut. Titrisasi potensiometri dapat dilakukan menggunakan elektroda kaca dan elektroda standar kalomel jenuh. Larutan kalium klorida jenuh dalam air diganti dengan larutan kalium klorida jenuh dalam metanol. Hubungan antara elektroda kalomel dan cairan titrisasi harus mempunyai tahanan listrik cukup rendah dan perpindahan cairan dari satu sisi ke sisi lain harus sedikit mungkin. Pembacaan hasil pengukuran kurang dari nol dapat dihindari dengan sumber

daya elektromotif stabil yang dipasang secara seri dengan sistem elektroda. Kestabilan dapat terjadi, jika sambungan antara potensiometer dan sistem elektroda tidak dibuat sesuai dengan petunjuk pabrik.

### Penetapan Susut Pengerinan

Susut pengeringan adalah kadar bagian zat yang menguap, kecuali dinyatakan lain, penetapan dilakukan sebagai berikut :

Timbang 1—2 g zat uji dalam botol timbang yang kering dan telah ditara. Jika zat uji berupa serbuk besar, gerus dengan cepat sampai ukuran butiran lebih kurang 2 mm dan timbang. Ratakan zat uji dalam botol timbang sampai lapisan setebal lebih kurang 5—10 mm, panaskan pada suhu 105°C sampai bobot tetap. Masukkan botol ke dalam desikator, biarkan dingin. Jika suhu lebur zat uji lebih rendah dari suhu penetapan, maka pengeringan dilakukan dengan suhu 5°—10°C di bawah suhu leburnya selama 1—2 jam, kemudian lanjutkan pengeringan pada suhu 105°C sampai bobot tetap.

### Pereaksi

Pereaksi yang digunakan adalah pereaksi yang umumnya tersedia secara komersial, dengan spesifikasi yang sesuai dengan peruntukannya, seperti:

- Pro analisis,
- spektrofotometer dan
- spesifikasi kromatografi cair.

Pembuatan pereaksi menggunakan air suling atau bebas mineral, kecuali dinyatakan lain.

Pereaksi dan bahan medium yang umum digunakan adalah :

**Amonia (27%—30%),  $\text{NH}_3$**

**Amonia encer (10%).** Encerkan 375 ml amonia dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Amonia-etanol.** Encerkan amonia pekat dengan etanol (95%) sampai mengandung 85,16 g/l  $\text{NH}_3$  (5 M).

**Amonium asetat  $\text{CH}_3\text{COO}_2\text{NH}_4$**

Amonium asetat larutan (7,7% b/v) (1 M).

**Amonium fosfat, amonium fosfat dibasa, diamonium hidrogenfosfat,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$**

**Amonium fosfat larutan, larutan amonium fosfat dibasa.** Larutkan 13 g amonium fosfat dalam air sampai batas volume 100,0 ml.

**Amonium karbonat** Campuran amonium bikarbonat ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ) dan amonium karbamat ( $\text{NH}_2\text{CO}_2\text{NH}_4$ ) dengan perbandingan tidak tetap. Mengandung tidak kurang dari 30,0%  $\text{NH}_3$ .

**Amonium karbonat larutan.** Larutan 5 g amonium karbonat dalam campuran 7,5 ml amonia encer dan 50 ml air, tambah air sampai batas volume 100,0 ml dan saring.

**Amonium klorida**

Amonium klorida larutan (10,0% b/v).

**Amonium klorida amonia pekat larutan.** Larutkan 67,5 g amonium klorida dalam 650 amonia, tambahkan air sampai batas volume 1000 ml.

**Amonium klorida (Nessler) larutan.** Campur 10 ml larutan amonium klorida dengan air bebas amonia sampai batas volume 1000 ml.

**Amonium klorida encer (Nessler) larutan.** Campur 10 ml larutan amonium klorida (Nessler) dengan air bebas amonia sampai batas volume 1000 ml.

**Amonium molibdat  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$** 

Amonium molibat larutan (10,0% b/v).

**Amonium molibat asam sulfat larutan.** Larutkan 10 amonium molibat dalam air sampai batas volume 100 ml, tambah larutan perlahan lahan pada campuran 150 ml asam sulfat dengan 100 ml air.

**Amonium oksalat  $(\text{CO}_2\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{O}$** 

Amonium oksalat larutan (2,5% b/v)

**Amonium persulfat  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$** **Amonium sulfamat  $\text{NH}_4\text{OSO}_2\text{NH}_2$** **Amonium sulfat  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$** 

**Amonia sulfida larutan.** Jenuhkan 120 ml amonia encer dengan hidrogen sulfida, tambah 80 ml amonium encer. Larutan harus segar.

**Amonium tiosianat  $\text{NH}_4\text{SCN}$** 

Amonium tiosianat larutan (10,0 % b/v).

**Amonium tiosianat kobalt nitrat larutan.** Larutkan 37,5 g kobalt (II) nitrat dan 150 g amonium tiosinat dalam air sampai batas volume 100 ml.

**Amonium raksa (II) tiosianat larutan.** Larutkan 30 g amonium tiosianat dan 27 g raksa (II) klorida dalam air sampai batas volume 1000 ml.

**Anilin  $\text{C}_6\text{HN}$** **Anisaldehyd, 4 metoksibenzaldehyd,  $\text{CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4\text{CHO}$** 

**Anisaldehyd larutan.** Campuran yang terdiri dari 0,5 ml anisaldehyd, 10 ml asam asetat glasial, 85 ml metanol dan 5 ml asam sulfat.

**Arang aktif, arang jerap**

**Daya menghilangkan warna.** Tambah 100 mg pada 50 ml biru bromfenol 20% b/v dalam labu 250 ml, aduk. Biarkan selama 5 menit, saring. Warna hasil saringan tidak lebih tua dari warna larutan yang dibuat dengan mengencerkan 1 ml biru bromfenol 20% b/v dengan etanol (20 %) sampai batas volume 50,0 ml.

**Arang aktif bebas klorida, arang jerap bebas klorida.** Arang aktif yang memenuhi syarat tambahan berikut: klorida 1,0 g memenuhi uji batas klorida.

**Arsentrioksida  $\text{As}_2\text{O}_3$** 

**Arsen (III) sulfida 500,0 mg larutan dalam 10 ml**

**amonia encer.** Larutan tidak berwarna dan jernih, jika diencerkan dengan air volume sama dan diasamkan dengan asam hidroklorida. Tidak terbentuk warna kuning.

**Asam asetat anhidrida, anhidrida asetat  $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$** 

Asam asetat encer (5—10%)

**Asam asetat glasial****Asam askorbat****Asam borat****Asam folat****Asam format  $\text{HCO}_2\text{H}$** 

**Asam fosfat.** Mengandung tidak kurang dari 85%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ .

**Asam fosfat encer.** Larutkan dan encerkan 112 g asam fosfat dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Asam fosfomolibdat  $\text{H}_3\text{PO}_4\cdot 12\text{MoO}_3\cdot 4\text{H}_2\text{O}$** 

**Asam fosfomolibdat sulfat larutan (fosfotungstat).** Larutkan 25 g natrium wolframat dalam 175 ml air, tambahkan 18,75 ml asam fosfat. Panaskan memakai refluks kondensor selama 6 jam, saring, tambah air sampai batas volume 250,0 ml. Simpan pada suhu 2°—10°C dan terlindung dari cahaya.

**Asam hidroklorida**

**Asam hidriklorida-brom.** Pada 1 ml brom, tambah asam hidroklorida sampai batas volume 100 ml.

**Asam hidroklorida encer.** Mengandung asam hidroklorida 7,3% b/v (2 M).

**Asam hidroklorida (10% v/v).** Campur 236 ml asam hidroklorida dengan air sampai batas volume 1000 ml.

**Asam kromotropat larutan.** Larutkan 5 mg natrium kromotropat dalam 10 ml campuran 9 ml asam sulfat dan 4 ml air.

**Asam metafosfat  $\text{HPO}_3$ .** Tercampur dengan natrium metafosfat.

**Asam nikotinat**

**Asam nitrat  $\text{HNO}_3$ .** Mengandung tidak kurang dari 69,0% dan tidak lebih dari 71,0%  $\text{HNO}_3$ .

**Asam nitrat encer.** Campur 106 ml asam nitrat dengan air sampai batas volume 1000 ml (10%  $\text{NHO}_3$ ).

**Asam oksalat  $(\text{CO}_2\text{H})_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$** 

Asam oksalat larutan (6,3% b/v).

**Asam perklorat  $\text{HIO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$** 

Mengandung tidak kurang dari 98,0%

**Asam perklorat (20%).** Larutan dalam air yang mengandung 20%  $\text{HClO}_4$  (2N).

**Asam perklorat (60%).** Larutan asam perklorat dalam air. Mengandung tidak kurang dari 59,0%  $\text{HIO}_4$ .

**Asam perklorat (70%).** Larutan dalam air yang mengandung tidak kurang dari 70,0%  $\text{HClO}_4$ .

**Asam salisilat****Asam sitrat monohidrat****Asam sulfanilat  $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{H}$** 

Mengandung tidak kurang dari 99,0%  $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{H}$

**Asam sulfanilat naftilamin larutan.** Larutkan 500 mg asam sulfanilat dalam 150 ml asam asetat. Larutkan 100 mg naftamina hidroklorida dalam 150 ml asam asetat. Campur kedua larutan. Terbentuk warna merah muda yang akan hilang oleh serbuk seng.

**Asam sulfat**

**Asam sulfat (10% v/v).** Campur 1 volume asam sulfat dengan 8 volume air, dinginkan.

**Asam sulfat (20% v/v).** Campur 1 volume asam sulfat dengan 4 volume air, dinginkan.

**Asam sulfat bebas klorida.** Asam sulfat yang memenuhi syarat berikut: Campur 2 ml dengan 50 ml air, tambahkan 1 ml larutan perak nitrat, tidak terjadi opalesensi.

**Asam sulfat bebas nitrogen.** Asam sulfat yang memenuhi syarat sebagai berikut: Campur 45 ml dengan 5 ml air, dinginkan, tambah 8 mg difenilbenzidin. Larutan tetap tidak berwarna atau hanya berwarna biru pucat.

**Asam sulfat encer.** Larutkan dan encerkan 104 g asam sulfat dengan air sampai batas volume 1000 ml dan dinginkan.

**Asam sulfat-etanol 0,3% v/v.** Campur 1 volume asam sulfat-etanol encer dengan 2 volume air.

**Asam sulfat-etanol encer.** Dinginkan secara terpisah 20 ml etanol (95%) dan 80 ml asam sulfat sampai suhu  $-5^\circ\text{C}$ . Tambah dengan hati-hati asam sulfat pada etanol, dinginkan, aduk perlahan lahan. Larutan harus disimpan di tempat dingin.

**Asam tartat  $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$ .** Mengandung tidak kurang dari 99,0%  $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$ , dihitung terhadap zat kering

Asam tartrat larutan (1,0 % b/v).

**Asam tioglikolat, asam merkptoasetat,  $\text{Hg}\cdot\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ .** Mengandung tidak kurang dari 89,0%  $\text{Hg}\cdot\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$

**Asam triklorasetat  $\text{CCl}_3\text{CO}_2\text{H}$ .** Mengandung tidak kurang dari 98,0%

**Asetaminofen**

**Asetaminofen bebas, p aminofenol.** Kristalkan asetaminofen dengan air sampai memenuhi syarat berikut: Larutkan dan encerkan 5 g zat kering dalam campuran metanol dan air dengan volume yang sama sampai batas volume 100 ml. Tambah 1,0 ml larutan natrium nitropruida basa, aduk dan biarkan selama 30 menit. Tidak terbentuk warna biru atau hijau.

**Aseton  $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$** **Aseton absolut****Asetonitril, metilsianida,  $\text{CH}_3\text{CN}$** **Barium hidroksida  $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$** 

**Barium hidroksida larutan.** 3,2% b/v dalam air bebas oksigen. Larutan harus segar.

**Barium klorida  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .** Mengandung tidak kurang dari 98,5%  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

**Barium klorida larutan.** (12,0% b/v).

**Benzen  $\text{C}_6\text{H}_6$** **Besi (III) amonium sitrat**

Mengandung tidak kurang dari 16,5% dan tidak lebih dari 18,5% Fe.

**Besi (II) amonium sulfat**

$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

**Besi (III) amonium sulfat**

$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$

**Besi (III) amonium sulfat larutan.** ( 8.0 % b/v) (0,5 N).

**Besi (III) amonium sulfat asam larutan.** Larutkan 200 mg besi (III) amonium sulfat dalam 50 ml air, tambah 6 ml asam nitrat encer dan encerkan dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

**Besi (II) sulfat anhidrat****Besi (II) sulfat larutan**

Larutkan besi (II) sulfat 2,8% b/v dalam air bebas oksigen (0,2 M). Larutan harus segar.

**Besi (II) tiosianat larutan.** Pada 35 ml air, tambah 3 ml asam sulfat encer, didihkan untuk menghilangkan oksigen. Pada larutan panas, tambah 1 g besi (II) sulfat, dinginkan dan tambah 500 mg kalium tiosianat. Tambah besi tereduksi sampai warna merah muda hilang. Larutan harus disimpan dalam wadah bebas oksigen dan jika berwarna merah muda, tidak boleh digunakan.

**Biotin  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ .** Mengandung tidak kurang dari 97,5%  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ .

**2,2' Bpiridin (1,1' dipiridil),  $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2$** **Biru bromfenol, 3', 3'', 5', 5'' tetrabromo fenolsulfonaftalein,  $\text{C}_{19}\text{H}_{10}\text{Br}_4\text{O}_5\text{S}$** 

**Biru bromfenol larutan.** Hangatkan 100 mg biru bromfenol dengan 3,0 ml natrium hidroksida 0,05 M dan 5 ml etanol (95%), aduk. Tambah etanol (20%) sampai batas volume 250,0 ml.

**Biru bromtimol, 6,6' (3H-2,1-benzoksatiol-3-iliden) bis-(2-bromtimol) SS dioksida; dibromtimol sulfoftalein,  $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{O}_5\text{S}$** 

**Biru bromtimol larutan.** Hangatkan 100 mg biru bromtimol dengan 3,2 ml natrium hidroksida 0,05 M dan 5 ml etanol (90%). Setelah larut sempurna, tambah etanol (20%) sampai batas volume 250,0 ml.

**Biru hidroksinaftol.** Natrium 1-(2-naftalazo-3,6-disulfonat)-2-naftol-4-sulfonat,  $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_{11}\text{S}_3$ . Diendapkan pada serbuk natrium klorida.

**Biru metilen, kuning metil, metiltionina klorida**

**Biru metilen, kuning metil larutan.** Larutkan 125 mg biru metilen dalam 100 ml etanol (95%) dan encerkan dengan air sampai batas volume 250,0 ml.

**Biru metilitimol.** 3,3' bis NN[di(karboksimetil)aminometil] timol sulfonftalein,

**Biru metiltimol campuran.** Campur 1 volume biru metilitimol dan 100 volume kalium nitrat.

**Biru tetrazolium.** [3,3'-(3-3'-dimetoksi-4,4' bifenilena)-bis(2,5-difenil-2 H-tetrazolium klorida)]

**Biru tetrazolium basa larutan.** Campur 1 volume biru tetrazolium 0,2% b/v dalam metanol dengan 3 volume natrium hidroksida 12% b/v dalam metanol.

**Biru timol, timol sulfonftatein, C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub>S.** Hangatkan 100 mg biru timol dengan 4,3 ml natrium hidroksida 0,05 M dan 5 ml etanol (90%). jika telah larut, tambah etanol (20%) sampai batas volume 250,0 ml.

**Brom Br<sub>2</sub>.** Cairan coklat kemerahan, berasap, korosif. Sukar larut dalam air, larut dalam pelarut organik.

**n Butanol, butanol; butan 1 ol****Butil hidroksitoluen****Dietilamin (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub> NH****2,7 Diklorfluorosein**

**Diklorfluorosein larutan.** Larutkan 100 mg diklorofluorosein dalam 60 ml etanol (95%), tambah 2,5 ml natrium hidroksida 0,1 M, aduk dan encerkan dengan air sampai batas volume 100,0 ml.

**Diklormetan, metilenklorida CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>****Dimetilaminobenzaldehid, p dimetilaminobenzaldehid**

**Dimetilaminobenzaldehid larutan.** Larutkan 125 mg dimetilaminobenzaldehid dalam campuran 65 ml asam sulfat dingin dan 35 ml air, tambah 0,1 ml larutan besi (II) klorida. Larutan dibiarkan selama 24 jam sebelum digunakan. Jika berwarna kuning tidak boleh digunakan.

**Dimetilanilin, N,N dimetilanilin****Dimetilformamid****Dimetilglioksim, diasetil dioksim****Dimetilsulfoksida****Dinitrobenzen, 3 dinitrobenzen**

**Dinitrobenzen larutan.** (1% b/v) dalam etanol (95%).

**Dinitrofenilhidrazin, 2,4 dinitrofenilhidrazin**

**Dinitrofenilhidrazin larutan.** Larutkan 1,5 g dinitrofenilhidrazina dalam 20 ml asam sulfat (50% v/v).

**Dioksan****Ditizon, 1,5 difeniltiokarbazon**

**Ditizon larutan.** (0,05% b/v dalam kloroform).

**n Dotriakontan****Etanol absolut****Eter, dietil eter****Petroleum benzin (40°—60°C)****Etil asetat****Etilen klorida****Etilmetilketon, 2 butanon****Fenantrolin, 1, 10 fenantrolin,**

**Fenantrolin larutan, feroin sulfat larutan.** Larutkan 700 mg besi (II) sulfat dalam 70 ml air, tambah 1,5 mg o fenantrolin dan dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Fenilhidrazin**

**Fenilhidrazin larutan.** Larutkan 65 ml serbuk fenilhidrazin hidroklorida dalam campuran 170 ml asam sulfat dan 80 ml air. Encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Fenilhidrazin hidroklorida****Fenol****Fenolftalein**

**Fenolftalein larutan.** Larutkan 200 mg fenolftalein dalam 60 ml etanol (90%) dan encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml.

**Fluorosein natrium****Formaldehid larutan****Gliserol****Glukosa****Glukosa bebas air****Heksamin****Heksan****Helium, He****Heptan****Hidrogen peroksida**

**Hidrogen peroksida encer.** Larutan hidrogen peroksida 6% b/v yang memenuhi syarat berikut: Pada 10 ml larutan, tambah 40 ml air, 1 ml asam nitrat encer dan 1 ml larutan perak nitrat. Tidak terjadi opalesensi.

**Hidroksimilamin hidroklorida, hidroksilamonium klorida**

**Hidroksimilamin hidroklorida larutan.** Larutkan

1 g hidroksilamina hidroklorida dalam 50 ml air dan tambah 50 ml etanol (95%), 1 ml larutan biru bromfenol dan natrium hidroksida 0,1 M sampai terbentuk warna hijau.

**Hidroksilamin etanol (60%).** Larutkan 34,75 g hidroksilamin hidroklorida dalam 950 ml etanol (95%), tambah 5 ml metil orange 0,2% b/v dalam etanol (60%) dan kalium hidroksida 0,5 M dalam etanol (60%) sampai terbentuk warna kuning. Encerkan dengan etanol (60%) sampai batas volume 100 ml.

#### Hijau bromkresol

#### Tetrabrom m kresolsulfonftalein

**Hijau bromkresol larutan.** Hangatkan 100 mg hijau bromkresol dengan 2,9 ml natrium hidroksida 0,05 M dan 5 ml etanol (90%), setelah larut sempurna, tambah etanol (20%) sampai batas volume 250 ml.

#### D,L Histidin monohidroklorida

#### Hitam eriokrom, hitam mordan

**Hitam eriokrom campuran.** Campur 0,2 volume larutan eriokrom dengan 100 volume natrium klorida. Larutan harus segar.

**Hitam eriokrom larutan.** Larutkan dan encerkan 200 mg hitam eriokrom dan 2 g hidroksilamin hidroklorida dalam metanol sampai batas volume 50 ml.

#### Iodium, iodin

**Iodium larutan.** Larutkan dan encerkan 2 g iodium dan 3 g kalium iodida dalam air sampai batas volume 100 ml.

#### Iso oktan, trimetilpentan, 2,2,4-trimetilpentan

#### Isopropanol, iso propileter, propan 2 ol

#### Metil jingga, natrium 4 dimetilaminoazobenzen-4 sulfonat,

Metil jingga larutan (0,04% b/v) dalam etanol (20%).

#### Silenol jingga

**Silenol jingga larutan.** campuran. Kocok 100 mg silenol jingga dengan 100 ml air, dan saring.

#### Kalium bikarbonat, kalium hidrogen karbonat,

#### Kalium dikromat $K_2Cr_2O_7$

Kalium dikromat larutan (7,0% b/v)

#### Kalium disulfat, kalium hidrogen sulfat

#### Kalium bisulfat

#### Kalium bromat

#### Kalium bromida

#### Kalium heksasianoferat (II) $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$

Kalium heksasianoferat (II) larutan

Kalium heksasianoferat (II) larutan (5,05% b/v)

#### Kalium hidroksida, KOH

Kalium hidroksida larutan (11,2% KOH)

**Kalium hidroksida-etanol larutan.** Larutan kalium hidroksida 10,0% b/v dalam etanol (95%).

**Kalium hidroksida-metanol larutan.** Larutan 3 g kalium hidroksida dalam metanol (90%). Larutan harus segar.

#### Kalium iodat $KIO_3$ (1,0% b/v dalam air).

#### Kalium iodida

Kalium iodida larutan (16,5% b/v).

**Kalium iodida kanji larutan.** Larutkan dan encerkan 10 g kalium iodida dalam air sampai volume 95 ml, tambah 5 ml larutan kanji. Larutan harus segar.

#### Kalium karbonat anhidrat

#### Kalium klorida

#### Kalium kromat, $K_2CrO_4$

Kalium kromat larutan (5,0% b/v)

#### Kalium natrium tartrat

#### Kalium nitrat $KNO_3$

#### Kalium nitrit $KNO_2$ ,

#### Kalium oksalat

#### Kalium periodat, $KIO_4$

#### Kalium permanganat

Kalium permanganat larutan (1,0% b/v)

#### Kalium sianida, KCN

Kalium sianida larutan (10,0% b/v).

#### Kalium sitrat

Kalium sulfat,  $K_2SO_4$

#### Kalium sulfat larutan (1,0% b/v).

#### Kalium tetrafenilborat

#### Kalium tiosianat, KCNS

#### Kalkon,

**Kalkon campuran** Campur 100 mg kalkon dengan 10 g natrium sulfat anhidrat.

#### Kalsium karbonat

#### Kalsium klorida anhidrat, $CaCl_2$

Kalsium klorida larutan (10% b/v).

#### Kasein

#### Klorkresol

#### Kloroform



**Kristal violet**

Kristal violet larutan (0,2% b/v dalam asam asetat glasial).

**Lakmus kertas**

Kertas lakmus merah atau kertas lakmus biru.

**Lantanum nitrat**

Lantanum nitrat larutan (5,0% b/v)

**Ungu katekol, katekol sulfonftalein,****Lisin 2,6 asam diaminoheksanoat****Magnesium klorida****Magnesium oksida MgO****Magnesium sulfat**

Magnesium sulfat larutan (10% b/v).

**Mangan (IV) oksida, mangan dioksida MnO<sub>2</sub>,****Mangan sulfat****Merah kresol,****Merah metil**

**Merah metil larutan.** Hangatkan 25 mg merah metil dengan 0,95 ml natrium hidroksida 0,05 M dan tambah 5 ml etanol (95%). Setelah larut sempurna, tambah etanol (50%) sampai batas volume 250 ml.

**Merah metil, biru metilen larutan, metil violet larutan.** Campur 20 ml merah metil 0,05% b/v dalam etanol (80%) dengan 0,4 ml biru metilen 2,0% b/v.

**Metanol****Metanol absolut, metanol anhidrat****1-Naftilamin,****1-Naftol, α-naftol.**

**1-Naftol larutan.** Larutkan 1 g α-naftol dalam larutan (mengandung 6 g natrium hidroksida dengan 16 g natrium karbonat anhidrat dalam 100 ml air). Larutan harus segar.

**2-Naftol, β-naftol,**

**2-Naftol larutan.** Larutkan 5 g 2 naftol (yang baru dihablurkan kembali) dalam 8 ml larutan natrium hidroksida dan tambah air sampai batas volume 100 ml. Larutan harus segar.

**p-Naftolbenzin**

Naftolbenzin larutan (0,25% b/v dalam asam asetat glasial).

**1 Naftolftalein 1,3 naftalendiol****Natrium asetat**

Natrium asetat larutan (13,6% b/v) (1 M).

**Natrium bisulfit**

**Natrium bisulfit larutan.** Larutkan dan encerkan 10 g natrium bisulfit dalam air sampai batas volume 30 ml. Larutan harus segar.

**Natrium dihidrogenfosfat,****Natrium difosfat,****Natrium fosfat mono basa****Natrium dietilditiokarbamat**

Natrium dietilditiokarbamat larutan (0,1 % b/v).

**Dinatrium hidrogenfosfat,****Natrium fosfomolibdat,****Trinatrium dodekamolibdatfosfat****Natrium hidrogen selenit****Natrium hidroksida**

Natrium hidroksida larutan (20,0% b/v).

Natrium hidroksida encer (4,0% b/v).

**Natrium hidroksida metanol (0,04%).** Larutkan 1 volume natrium hidroksida dalam 2500 volume metanol.

**Natrium karbonat**

Natrium karbonat larutan (10% b/v).

**Natrium klorida**

Natrium klorida larutan injeksi (0,9% b/v yang steril).

**Natrium molibdat****Natrium nitrit NaNO<sub>2</sub>**

Natrium nitrit larutan (10,0% b/v).

**Natrium periodat, natrium metaperiodat, NaIO<sub>4</sub>****Natrium sitrat****Natrium sulfat anhidrat****Natrium sulfit Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O**

Mengandung tidak kurang dari 96,0% Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O.

**Natrium tartrat, natrium tartrat dihidrat,****Natrium tetrabonat, boraks, natrium tetrabonat,****Natrium tetrafenilborat.****Natrium tiosulfat****Ninhidrin**

Ninhidrin larutan (0,2% b/v).

**p-Nitroanilin, 4-nitroanilin**

**p-Nitroanilin diazotasi larutan, 4-nitroanilin larutan.** Larutkan 400 mg 4 nitroanilin dalam 60 ml asam hidroklorida 1 M, dinginkan sampai suhu 15°C, tambah natrium nitrit 10% b/v sampai 1 tetes

campuran merubah kertas kanji iodida menjadi warna biru. Larutan harus segar.

### Nitrobenzen

#### Pati kentang (kanji)

**Pati (kanji) larutan.** Pati yang telah direaksikan dengan asam hidroklorida. Setelah dibilas dan dilarutkan dalam air panas, larutan hampir jernih.

**Penisilinase** (Tetapan Michaelis penisilinase untuk benzilpenisilin 12 µg/ml).

### Pepton

#### Perak nitrat

Perak nitrat larutan (5,0% b/v larutan harus segar).

### Piridin

### Piridoksamin dihidroklorida

### Pirogalol, 1,2,3 Trihidroksibenzen,

### Prokain

### n Propanol, propan 1 ol,

### Propilenglikol

### Raksa (II) klorida

Raksa (II) klorida larutan (6,5% b/v).

### Reserpin

### Resorsinol

#### Serium (IV) amonium nitrat

**Serium (IV) amonium nitrat larutan.** Larutkan 6,25g serium (IV) amonium nitrat dalam 10 ml asam nitrat 0,235 M. Larutan harus segar.

#### Serium (IV) amonium sulfat

### Setrimid

### Setalkonium klorida

### Benzilheksadekildimetil amonium klorida,

### Sikloheksan

### Silika gel

### Silika gel G

### Silika gel GF<sub>254</sub>

### Silika gel H

### Sistein, L sistein

### Tanah fuller

Terdiri dari aluminium magnesium silikat hidrat.

### Tembaga (II) sulfat

Tembaga (II) sulfat larutan (10,0% b/v).

**Tembaga (II) sulfat encer.** Larutkan 15,22 g natrium hidrogenfosfat anhidrat dalam air sampai volume 536 ml, atur pH 5,15 – 5,25 dengan asam sitrat 2,1 % b/v (646 ml). Campur 999 ml larutan dengan 1 ml larutan tembaga (II) sulfat dalam 90 ml air, tambah 30 ml piridin. Larutan harus segar.

### Tetrabutylamonium iodida

### Tetrahidorofuran

#### Tetrametilamonium hidroksida

**Tetrametilamonium hidroksida larutan encer,** Encerkan 4 ml tetrametilamonium hidroksida dengan etanol absolut bebas aldehid sampai batas volume 100,0 ml. Larutan harus segar.

#### Timbal (II) asetat

**Timbal (II) asetat larutan** (9,5% b/v dalam air bebas karbondioksida).

### Timerosal, tiomersal

#### Timolftalein

**Timolftalein larutan.** Larutkan 200 mg timolftalein dalam 60 ml etanol (90%), tambah air sampai batas volume 100,0 ml.

### Toluen

#### Trifeniltetrazolium klorida

**Trifeniltetrazolium klorida larutan.** (0,5% b/v dalam etanol absolut bebas aldehid). Larutan harus segar.

**Trinitrofenol, asam pikrat.** Serbuk kristal kuning terang. Mudah meledak.

**Trinitrofenol larutan, asam pikrat larutan.** Pada 100 ml larutan trinitrofenol jenuh dalam air, tambah 0,5 ml larutan natrium hidroksida encer.

#### Triptofan, L triptofan

#### D,L triptofan,

#### Bromkresol violet

**Bromkresol violet larutan.** Hangatkan 100 mg bromkresol violet dengan 5 ml etanol (90%) sampai larut, tambah 100 ml etanol (20%), 3,7 ml natrium hidroksida 0,05 M dan etanol (20%) sampai batas volume 250 ml.

### Vanilin

### Xantin

## Reaksi Identifikasi

### Aluminium

Pada larutan garam aluminium, tambah larutan amonium klorida dan amonia encer. Terbentuk endapan gel putih, yang larut dalam asam hidroklorida, asam asetat atau larutan natrium hidroksida, tetapi hampir tidak larut dalam amonia encer, larutan garam

amonium dan praktis tidak larut dalam semua pelarut di atas, jika campuran dididihkan.

Pada larutan garam aluminium, tambah amonia encer sampai terbentuk endapan halus, kemudian tambah 5 tetes larutan segar kinalizurin 0,05% b/v dalam larutan natrium hidroksida 1% b/v, panaskan sampai mendidih. Dinginkan, asamkan dengan asam asetat berlebih, terbentuk warna violet kemerahan.

Pada larutan garam aluminium, tambah 5 tetes larutan amonium asetat atau 5 tetes larutan biru mordan III (0,1 % b/v), terbentuk warna ungu kuat.

#### **Amina aromatik primer**

Larutkan 100 mg dalam 2 ml asam hidroklorida encer, jika perlu panaskan, dinginkan dalam es, tambah 4 ml natrium nitrit (1% b/v), tambah 2 ml larutan naftol yang mengandung 1 g natrium asetat, terbentuk endapan kuning tua—merah tua tergantung dari zat uji.

#### **Amonium**

Jika garam amonium dipanaskan dengan larutan natrium hidroksida, terbentuk amoniak, kertas lakmus merah menjadi biru.

Pada larutan garam amonium yang telah diasamkan dengan asam hidroklorida, tambah larutan platina (IV) klorida, jika ada etanol terbentuk serbuk kuning. Jika serbuk dipijarkan, residu hanya terdiri dari platina.

#### **Antimon**

Larutan senyawa antimon yang agak asam, tambah hidrogen sulfat, terbentuk endapan orange. Larut dalam larutan natrium hidroksida, larutan amonium sulfida dan asam hidroklorida hangat dengan membebaskan hidrogen sulfida. Tidak larut dalam larutan amonium karbonat.

Pada larutan senyawa antimon, tambah hidrogen yang berasal dari hasil reaksi antara serbuk seng dan asam sulfat encer, terbentuk gas stibin. Pada cawan porselen dingin yang diletakkan terbalik di atasnya, terjadi pemisahan logam warna gelap, tidak larut dalam larutan natrium hipoklorit encer. Larut dalam larutan asam tartrat.

#### **Asetat**

Jika dihangatkan dengan asam oksalat, terbentuk asam asetat dan bau khas.

Jika dihangatkan dengan asam sulfat dan sedikit etanol (95%), terbentuk etil asetat dan bau khas.

Jika dipanaskan dengan kalsium oksida, terbentuk aseton, jika uapnya mengenai kertas saring yang dibasahi dengan 2 nitrobenzaldehyd 2% b/v dalam etanol (95%) (yang dikeringkan dan dibasahi dengan natrium hidroksida 1 M). Terbentuk warna biru indigo.

#### **Barium**

Larutan garam barium dengan asam sulfat encer, terbentuk endapan putih yang praktis tidak larut dalam asam hidroklorida atau asam nitrat.

Garam barium dalam nyala api, terbentuk warna hijau kekuningan dalam nyala api dan jika dilihat dengan kaca hijau, nyala berwarna biru.

#### **Benzoat**

Jika dihangatkan dengan asam sulfat, tidak terbentuk arang, tetapi menyublim putih pada dinding tabung.

Pada larutan asam benzoat, tambah asam hidroklorida encer; terbentuk endapan putih. Bilas endapan dengan air sampai bebas klorida, suhu lebur 122°C. Endapan mudah larut dalam kloroform dan eter.

Pada larutan benzoat netral, tambah larutan besi (III) klorida, terbentuk endapan merah, tambah asam hidroklorida, terbentuk endapan asam benzoat.

#### **Besi**

Larutan senyawa besi (II) dan besi (III) dengan larutan amonium sulfida, terbentuk endapan hitam. Endapan larut dalam asam hidroklorida encer dan bebas gas hidrogen sulfida.

#### **Besi (II)**

Larutkan garam besi (II) dalam asam sulfat encer, tambah 1,1-o-fenantrolin 0,1% b/v, terbentuk warna merah kuat, tambah serum (IV) amonium sulfat 0,1 M sedikit berlebih, larutan tidak berwarna.

Pada larutan garam besi (II), tambah larutan kalium heksasioanoferrat (III), terbentuk endapan biru tua. Praktis tidak larut dalam asam hidroklorida encer dan terurai oleh larutan natrium hidroksida.

Pada larutan garam besi (II), tambah larutan kalium heksasianoferrat (II), terbentuk endapan putih yang cepat berubah menjadi biru. Praktis tidak larut dalam asam hidroklorida encer

#### **Besi (III)**

Asamkan larutan besi (III) dengan asam hidroklorida encer, tambah larutan amonium tiosianat, terbentuk warna merah yang terekstrak dalam eter atau amilalkohol. Tambah larutan raksa (II) klorida atau asam fosfat, terbentuk warna merah.

Pada larutan garam besi (III), tambah larutan kalium heksasianoferrat (II), terbentuk endapan biru kuat. Praktis tidak larut dalam asam hidroklorida encer.

Asamkan larutan garam besi (III) dengan asam asetat, tambah asam 8 hidrokso 7 iodokinolina 5 sulfonat 0,2% b/v, terbentuk warna hijau kuat.

#### **Bikarbonat**

Pada larutan garam bikarbonat, tambah asam encer, terbentuk karbondioksida yang jika dialirkan ke dalam larutan kalsium hidroksida, terbentuk endapan putih.

Jika dididihkan larutan garam bikarbonat bebas karbondioksida. Pada larutan garam bikarbonat, tambah larutan magnesium sulfat, dididihkan, terbentuk endapan putih.

#### **Bismut**

Larutan garam bismut dalam asam hidroklorida atau asam nitrat, tambah air berlebih, terbentuk endapan putih. Tambah larutan natrium sulfida, terbentuk endapan coklat.

Pada larutan garam bismut dalam sedikit campuran 1 volume asam nitrat dan 2 volume air, tambah larutan

kalium iodida, terbentuk endapan hitam. Tambah larutan kalium iodida berlebih, endapan larut dan terbentuk warna coklat kekuningan, encerkan dengan air, panaskan, terbentuk endapan orange seperti warna tembaga.

### **Bisulfit**

Memenuhi syarat seperti yang tertera pada reaksi identifikasi sulfit.

### **Borat**

Asamkan larutan borat dengan asam hidroklorida, terbentuk warna merah kecoklatan pada kertas kurkuma. Jika dikeringkan warna menjadi lebih kuat, jika dibasahi dengan amonia encer, terbentuk warna hitam kehijauan.

Asamkan 1 ml larutan borat dengan asam hidroklorida, tambah 3—4 tetes iodium (0,1% b/v) dan 3—4 tetes polivinil etanol (2% b/v), terbentuk warna biru kuat.

Campur borat dengan asam sulfat dan metanol, pijarkan, terbentuk warna hijau pada nyala api.

### **Bromida**

Larutan bromida jika dipanaskan dengan asam sulfit dan mangan (IV) oksida atau kalium bikromat, terbentuk brom yang memberikan warna merah muda pada kertas saring [yang dibasahi dengan natrium fluoresein 0,2% b/v dalam etanol (95%)].

Pada larutan bromida tambahkan larutan perak nitrat, terbentuk endapan kekuningan yang larut dalam amonia, sukar larut dalam amonia encer, praktis tidak larut dalam asam nitrat encer.

Pada larutan bromida, tambah larutan klor, terbentuk brom yang larut dalam 2—3 tetes karbondisulfida atau kloroform, dengan warna kemerahan. Tambah larutan fenol pada lapisan air yang mengandung brom, terbentuk endapan putih. Pada pengujian bromida yang mengandung iodida, semua iodium harus dihilangkan lebih dahulu dengan mendidihkan lapisan air dengan timbal (II) oksida berlebih.

### **Fosfat**

Netralkan larutan fosfat sampai pH 7, tambah larutan perak nitrat, terbentuk endapan kekuningan yang mudah larut dalam amonia encer dan asam nitrat encer.

Pada larutan fosfat, tambah larutan magnesium sulfit amonia, terbentuk endapan putih.

Pada larutan fosfat dalam asam nitrat encer, tambah larutan amonium molibdat dengan volume yang sama, hangatkan, terbentuk endapan warna kekuningan.

### **Iodida**

Pada larutan iodida, tambah larutan perak nitrat, terbentuk endapan kuning yang praktis tidak larut dalam amonia encer dan asam nitrat.

Pada larutan iodida, tambah larutan kalium iodat dan asam asetat encer, terbentuk iodium yang memberikan warna violet kemerahan dengan kloroform, dan warna biru dengan larutan kanji.

Pada larutan iodida, tambah larutan raksa (II) klorida,

terbentuk endapan merah yang agak sukar larut dalam pereaksi di atas dan mudah larut dalam larutan kalium iodida.

### **Kalium**

Asamkan senyawa kalium dengan asam hidroklorida, pijarkan pada sebatang kawat platina dalam nyala api tidak berwarna, terbentuk warna violet. Jika diamati dengan kaca biru yang sesuai, warna nyala api ungu kemerahan.

Pada larutan garam kalium pekat yang telah bebas garam amonium dengan pemijaran, tambah larutan platina (IV) klorida dan asam hidroklorida, terbentuk endapan kuning, pijarkan, residu pemijaran adalah kalium klorida dan platina.

Kocok 2 ml larutan garam kalium jenuh yang mengandung tidak kurang dari 5% b/v dengan 10 tetes larutan asam tartrat jenuh, terbentuk endapan putih.

### **Kalsium**

Pada larutan garam kalsium, tambah larutan amonium karbonat, terbentuk endapan putih. Didihkan, dinginkan, endapan sukar larut dalam larutan amonium klorida.

Pada larutan garam kalsium, tambah larutan amonium oksalat, terbentuk endapan putih yang larut dalam asam hidroklorida, tetapi agak sukar larut dalam asam asetat.

Pada 1 tetes larutan garam kalsium, tambah 4 tetes glioksal bis-(2 hidroksianil) (1% b/v) dalam etanol (95%) dan 1 tetes natrium hidroksida 10% b/v, terbentuk endapan coklat kemerahan yang larut dalam kloroform, larutan berwarna merah.

### **Karbonat**

Pada karbonat, tambah asam encer, terbentuk busa bebas karbondioksida yang jika dialirkan ke dalam larutan kalsium hidroksida, terbentuk endapan putih.

Pada larutan karbonat, tambah larutan magnesium sulfat, terbentuk endapan putih.

### **Klorida**

Panaskan larutan klorida dengan asam sulfat dan mangan (IV) oksida, terbentuk klor yang memutihkan kertas lakmus basa dan terbentuk warna biru pada kertas kanji iodida.

Pada larutan klorida, tambah larutan perak nitrat, terbentuk endapan putih yang tidak larut dalam asam nitrat. Endapan larut dalam amonia encer setelah dibilas dengan air, tambah asam nitrat, terbentuk endapan baru.

### **Kobalt**

Pada larutan senyawa kobalt, tambah natrium hidroksida 1 M, terbentuk endapan biru yang segera berubah menjadi hijau lumut. Jika dididihkan segera setelah terjadi endapan, warna endapan berubah menjadi merah muda.

Pada larutan garam kobalt, jenuhkan dengan kalium klorida, tambah kalium nitrit dan asam asetat, terbentuk endapan kuning.

**Magnesium**

Pada larutan garam magnesium, tambah larutan amonium karbonat, dididihkan, terbentuk endapan putih, jika terdapat larutan amonium klorida, tidak terbentuk endapan.

Pada larutan garam magnesium, tambah larutan dinatrium hidrogen fosfat yang mengandung garam amonium dan amonia encer, terbentuk kristal putih.

Pada larutan garam magnesium, tambah kuning titan 0,1% dan natrium hidroksida (10% b/v), terbentuk kekeruhan warna merah terang yang lama kelamaan menjadi endapan merah coklat.

**Natrium**

Asamkan senyawa natrium dengan asam hidroklorida, pijarkan pada sebatang kawat platina dalam nyala api, terbentuk nyala api berwarna kuning.

Asamkan larutan garam natrium dengan asam asetat, saring, tambah larutan magnesium uranil asetat berlebih, terbentuk kristal kuning.

Pada larutan garam natrium, tambah larutan kalium antimonat, perlahan lahan terbentuk kristal putih.

**Nitrat**

Pada senyawa nitrat, tambah asam sulfat dan tembaga, terbentuk gas merah.

Pada larutan nitrat, tambah larutan besi (II) sulfat, tidak terbentuk warna coklat, jika ditambahkan dengan hati hati asam sulfat sampai terbentuk 2 lapisan, batas berwarna coklat.

Larutan nitrat, jika dicampur perlahan lahan dengan asam sulfat, pada penambahan kristal brusin terbentuk warna merah.

**Penisilin**

Campur 2 ml senyawa penisilin dengan 2 mg natrium kromotropat dan 2 ml asam sulfat, panaskan pada suhu 150°C, kocok, amati tiap 30 detik, larutan berwarna seperti tertera pada tabel dibawah. Jika pengujian dilakukan pada benzatin penisilin, benzil penisilin atau prokain penisilin, terbentuk warna kekuningan sebelum larutan mengarang.

Waktu (menit)	Ampisilin	Benzil-penisilin	Kloksasilin
0	Tidak berwarna	Tidak berwarna	Tidak berwarna
¼	–	–	–
½	Tidak berwarna	Tidak berwarna	Kekuningan
¾	–	–	–
1	Tidak berwarna	Tidak berwarna	Kuning kehijauan
2	Keunguan	Kuning	Hijau
2 ½	Ungu tua kehijauan	Kuning	Ungu lumut
3	Violet kecoklatan	Kuning lumut	Ungu kekuningan

Waktu (menit)	Ampisilin	Benzil-penisilin	Kloksasilin
3 ¼	Violet	Hitam kecoklatan	Ungu kekuningan
4	Kehitaman	–	Ungu
4 ¼	–	–	Ungu
5	–	–	Ungu

**Perak**

Pada larutan garam perak, tambah larutan klorida atau asam hidroklorida, terbentuk endapan warna putih yang larut dalam amonia encer, praktis tidak larut dalam asam nitrat.

Pada larutan garam perak, tambah larutan kalium kromat, terbentuk endapan warna merah yang larut dalam asam nitrat.

Pada larutan garam perak, tambah dengan amonia encer kemudian asamkan dengan asam asetat, kocok dengan 4 dimetilamino- benzilidenrodamin 0,25% b/v dalam amil-alkohol, terbentuk endapan merah.

**Permanganat**

Asamkan larutan permanganat dengan asam sulfat, tambah hidrogen peroksida encer atau larutan natrium bisulfit, warna hilang dalam keadaan dingin dan tambah asam oksalat, warna hilang dalam keadaan panas.

**Peroksida**

Asamkan larutan peroksida dengan asam sulfat, tambah larutan kalium dikromat, terbentuk warna larutan biru tua, kocok dengan eter volume yang sama, biarkan terpisah, lapisan eter berwarna biru.

**Raksa**

Teteskan larutan raksa garam bebas asam nitrat berlebih pada lempeng tembaga mengkilat, jika digosok menjadi mengkilat seperti perak, terbentuk bercak. Pada larutan garam perak, tambah hidrogen sulfida, terbentuk endapan hitam yang tidak larut dalam larutan amonium sulfida dan asam nitrat encer mendidih.

**Raksa (I)**

Pada larutan senyawa raksa (I), tambah larutan natrium hidroksida encer terurai menjadi hitam dengan penambahan amonia encer.

Pada larutan senyawa raksa (I), tambah larutan kalium iodida, terbentuk endapan kuning, jika dibiarkan, terbentuk endapan hijau.

**Raksa (II)**

Pada larutan garam raksa (II), tambah larutan natrium hidroksida encer; terbentuk endapan kuning.

Netralkan larutan garam raksa (II) dengan larutan kalium iodida, terbentuk endapan merah tua yang sangat mudah larut dalam pereaksi berlebih.

**Seng**

Pada larutan garam seng, jika perlu dibuat dengan

penambahan asam hidroklorida, tambah larutan alkali hidroksida, terbentuk endapan putih yang larut dalam larutan alkali hidroksida berlebih. Tambah larutan amonium klorida, larutan tetap jernih, tambah larutan natrium sulfida, terbentuk endapan putih.

Pada larutan garam seng, tambah larutan kalium heksasianoferat (II), terbentuk endapan putih yang praktis tidak larut dalam asam hidroklorida encer.

Asamkan larutan garam seng dengan asam sulfat encer, tambah 1 tetes tembaga (II) sulfat (0,1% b/v) dan 2 ml larutan amonium raksa (II) tiosianat, terbentuk endapan violet.

#### Sitrat

Didihkan larutan sitrat netral dengan larutan kalsium klorida berlebih, dalam keadaan dingin tidak terbentuk endapan, didihkan, terbentuk endapan putih yang larut dalam asam asetat.

Didihkan larutan sitrat dengan larutan raksa (II) sulfat berlebih, jika perlu saring, didihkan, tambah beberapa tetes larutan kalium permanganat, larutan tidak berwarna, terbentuk endapan putih.

#### Sulfat

Pada larutan sulfat, tambah larutan barium klorida, terbentuk endapan putih yang praktis tidak larut dalam asam hidroklorida.

Pada larutan sulfat, tambah larutan timbal (II) asetat, terbentuk endapan putih yang larut dalam larutan amonium asetat dan dalam larutan natrium hidroksida.

#### Sulfit

Pada senyawa sulfit, tambah asam hidroklorida encer, terbentuk belerang dioksida yang dapat diketahui dari baunya, dapat menghitamkan kertas saring yang dibasahi dengan larutan raksa (I) nitrat.

#### Tartrat

Pada larutan netral tartrat, tambah larutan perak nitrat berlebih, terbentuk endapan putih yang larut dalam asam nitrat dan amonia encer, jika dipanaskan, terbentuk perak yang menempel pada dinding tabung.

Asamkan larutan tartrat dengan asam asetat, tambah 1 tetes larutan besi (II) sulfat, beberapa tetes hidrogen peroksida encer dan larutan natrium hidroksida berlebih, terbentuk warna ungu atau violet.

Tambah beberapa tetes larutan tartrat ke dalam asam sulfat yang telah dicampur dengan beberapa tetes resersinol (2% b/v) dan kalium bromida (10% b/v), hangatkan di atas penangas air selama 5—10 menit, terbentuk warna biru kuat, jika didinginkan dan tambah air, terbentuk warna merah.

#### Timbal

Pada larutan garam timbal, tambah asam sulfat encer, terbentuk endapan putih yang tidak larut dalam asam hidroklorida, tetapi larut dalam natrium hidroksida I M hangat dan amonium asetat (10% b/v).

Pada larutan garam timbal bebas asam mineral, tambah kalium kromat (10% b/v), terbentuk endapan kuning

yang praktis tidak larut dalam asam asetat, tetapi larut dalam natrium hidroklorida 1 M.

#### Tiosulfat

Pada larutan tiosulfat, tambah asam hidroklorida, terbentuk endapan putih yang segera berubah menjadi kuning dengan membebaskan belerang dioksida yang dapat diketahui dari baunya.

Pada larutan tiosulfat, tambah larutan besi (II) hidroklorida, terbentuk warna ungu tua yang segera hilang.

## Spektrofotometri

Spektrofotometri meliputi spektrofotometri ultraviolet, cahaya tampak dan spektrum serapan inframerah.

### Spektrofotometri Ultraviolet dan Cahaya Tampak

Spektrofotometri adalah pengukuran serapan radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang tertentu yang sempit, serapan zat mendekati monokromatik. Pengukuran serapan dapat dilakukan pada daerah ultraviolet (panjang gelombang 190 nm—380 nm) atau pada daerah cahaya tampak (panjang gelombang 380 nm—1100 nm). Meskipun spektrum pada daerah ultraviolet dan cahaya tampak dari suatu zat tidak khas, tetapi sangat sesuai untuk penetapan kuantitatif, dan untuk beberapa zat berguna untuk membantu identifikasi.

#### Istilah dan definisi

Serapan (A) adalah nilai logaritma kebalikan transmitan (T). Serapan (A) adalah logaritma dengan bilangan pokok 10 dan harga perbandingan terbalik T.

Transmitan (T) adalah perbandingan intensitas radiasi yang diteruskan terhadap intensitas radiasi yang datang

Daya serap (a) adalah serapan (A) dibagi dengan hasil perkalian kadar (c), dinyatakan (g/l) dan tebal lapisan zat yang menyerap sinar (b) dinyatakan (cm).

$$a = \frac{A}{b \cdot c}$$

Serapan jenis (A 1%, 1 cm) adalah serapan (A) dibagi dengan hasil perkalian kadar (c), dinyatakan dalam g/100 ml dan tebal lapisan zat yang menyerap sinar (b) dinyatakan (cm).

$$A(1\%, 1 \text{ cm}) = 10 \times a.$$

Spektrum serapan adalah hubungan antara serapan atau fungsi serapan dengan panjang gelombang atau fungsi panjang gelombang, yang biasanya digambarkan dalam bentuk grafik.

Daya serap atau serapan jenis zat pada batas kadar tertentu adalah tetap, tidak tergantung dari intensitas radiasi, panjang jalan sinar dan kadar larutan, sampai serapan spektrofotometri dapat digunakan untuk penetapan kadar. Penyimpangan dari ketentuan

tersebut dapat disebabkan oleh adanya variasi alat atau akibat adanya perubahan fisiko kimia. Penyimpangan oleh alat dapat disebabkan oleh lebar celah, sinar hambur atau sinar polikromatik. Perubahan fisiko kimia dapat berupa terjadinya perubahan kadar yang disebabkan oleh terjadinya asosiasi antara molekul zat yang terlarut atau antara molekul zat dan molekul pelarut, atau terjadinya disosiasi atau ionisasi.

### Peralatan

Spektrofotometer pada dasarnya terdiri atas sumber sinar monokromator, tempat kuvet untuk zat yang diperiksa, detektor, penguat arus dan alat ukur atau pencatat. Spektrofotometer dapat bekerja secara otomatis ataupun tidak, dapat mempunyai sistem sinar tunggal atau ganda. Kuvet yang digunakan untuk pengukuran pada daerah ultraviolet dibuat dari silika, sedang untuk pengukuran pada daerah sinar tampak dibuat dari kaca, yang banyak digunakan adalah kuvet dengan tebal 1 cm. Kuvet yang akan digunakan untuk larutan uji dan larutan blanko harus mempunyai transmittan yang sama jika masing-masing mengandung pelarut. Jika nilai transmittan tidak sama, harus dilakukan koreksi. Kebersihan kuvet harus mendapat perhatian secara khusus. Setelah kuvet dibilas dengan cairan pembersih, harus dibilas dengan air kemudian dengan pelarut organik yang mudah menguap agar cepat kering. Larutan uji tidak boleh dibiarkan di dalam kuvet lebih lama dari pada yang diperlukan untuk pengukuran. Kuvet tidak boleh dipegang pada permukaan yang dilewati sinar. Spektrofotometer secara teratur harus dikalibrasi baik terhadap skala panjang gelombang, maupun terhadap skala fotometer. Untuk kalibrasi skala panjang gelombang dapat digunakan penyaring kaca didinium atau penyaring kaca holmium. Kalibrasi skala fotometri biasanya dilakukan dengan larutan kalium dikromat.

### Pelarut

Sebagai pelarut untuk penetapan spektrofotometri pada daerah cahaya ultraviolet dapat digunakan pelarut dengan spesifikasi untuk spektrofotometer atau yang sesuai. Pelarut yang digunakan sebagai blanko harus berasal dari lot yang sama dengan pelarut yang digunakan untuk membuat larutan yang diukur, serta tidak boleh berfluoresensi pada panjang gelombang pengukuran.

### Identifikasi

Identifikasi zat secara spektrofotometri pada daerah ultraviolet pada umumnya dilakukan dengan menggambarkan spektrum serapan larutan zat dalam pelarut, dan kadar seperti yang tertera pada monografi, untuk menetapkan letak serapan maksimum atau minimum. Spektrum serapan dari zat yang diperiksa perlu dibandingkan dengan standar yang sesuai. Dalam hal ini standar tersebut dikerjakan dengan cara yang sama dan diukur dengan kondisi yang sama dengan zat yang diperiksa. Kecuali dinyatakan lain dalam monografi, larutan standar sampai kadarnya sama atau dalam batas  $\pm 10\%$  dari kadar zat uji. Dalam daerah ultraviolet identifikasi dapat pula dilakukan

dengan menghitung nilai perbandingan serapan pada 2 maksimum. Dengan cara ini dapat dihindari kesalahan yang disebabkan oleh pengaruh alat dan tidak diperlukan larutan standar.

### Penetapan kuantitatif

Penetapan secara kuantitatif dilakukan dengan mengukur serapan larutan zat dalam pelarut serta pada panjang gelombang tertentu. Pengukuran serapan biasanya dilakukan pada panjang gelombang serapan maksimum seperti yang tertera pada monografi. Oleh karena letak serapan maksimum dapat berbeda jika digunakan alat yang berbeda, maka sebaliknya pengukuran dilakukan pada panjang gelombang serapan maksimum yang diperoleh dengan alat yang digunakan harus pada panjang gelombang yang diperoleh tidak berbeda lebih dari  $\pm 0,5$  nm pada panjang gelombang 240—280 nm, tidak lebih dari  $\pm 1$  nm pada panjang gelombang 280—320 nm, serta dan lebih dari  $\pm 2$  nm di atas panjang gelombang 320 nm, dari panjang gelombang yang ditentukan. Jika perbedaannya melebihi batas tersebut alat harus dikalibrasi. Pada pengukuran serapan suatu larutan hampir selalu digunakan blanko, berfungsi untuk mengatur spektrofotometer sampai pada panjang gelombang pengukuran mempunyai serapan nol.

Blanko adalah untuk koreksi serapan yang disebabkan oleh pelarut, pereaksi, kuvet atau pengaturan alat. Blanko dapat berupa blanko pelarut yang merupakan pelarut yang sama seperti yang digunakan untuk melarutkan zat atau blanko. Pereaksi yaitu pereaksi yang sama seperti yang digunakan untuk larutan zat. Jika dengan cara seperti tersebut di atas nilai serapan larutan zat telah diukur, kadar larutan dapat ditetapkan berdasarkan nilai serapan atau serapan jenis seperti yang tertera pada monografi, menggunakan persamaan seperti yang tertera pada istilah dan definisi di atas. Penetapan kadar dapat juga dilakukan dengan cara membandingkan serapan larutan zat uji terhadap larutan standar yang disiapkan dengan cara yang sama. Dalam hal ini pengukuran serapan mula mula dilakukan terhadap larutan standar kemudian terhadap larutan zat uji. Pengukuran kedua dilakukan secepat mungkin setelah pengukuran pertama. Sebagai pengganti zat standar dapat digunakan kurva standar yang dibuat menggunakan standar. Hal ini dapat dilakukan, jika zat yang diperiksa dalam batas kadar 75%—125% terhadap kadar larutan akhir memenuhi hukum Lambert Beer. Kurva standar harus diperiksa lagi secara berkala.

## Spektrum Serapan Inframerah

Daerah spektrum elektromagnet inframerah yang digunakan untuk analisis obat meliputi 4000—250  $\text{cm}^{-1}$  (2,5—40  $\mu\text{m}$ ). Spektrum serapan inframerah suatu zat mempunyai gambaran yang khas untuk zat yang bersangkutan, sampai dapat digunakan sebagai identifikasi. Untuk keperluan identifikasi spektrum serapan zat uji dapat dibandingkan dengan spektrum

serapan standar yang ditetapkan dengan cara yang sama.

### Istilah dan definisi

Sesuai dengan yang tertera pada spektrofotometri ultraviolet dan cahaya tampak.

### Peralatan

Spektrofotometer inframerah pada dasarnya sama dengan spektrofotometer ultraviolet dan cahaya tampak, hanya berbeda pada sumber energi, bahan optik dan detektor. Spektrofotometer yang digunakan untuk identifikasi meliputi panjang gelombang 4000—670  $\text{cm}^{-1}$  (2,5—15  $\mu\text{m}$ ). Spektrofotometer inframerah harus dikalibrasi terhadap skala panjang gelombang, misalnya menggunakan selaput polistiren.

### Pelarut

Pelarut yang digunakan harus tidak merusak bahan yang digunakan untuk membuat kuvet, biasanya natrium klorida atau yang sesuai. Tidak ada pelarut pada daerah inframerah yang transparan. Karbon tetraklorida praktis transparan pada panjang gelombang 4000—1700  $\text{cm}^{-1}$ . Dapat juga digunakan pelarut kloroform, klorometan dan dibrommetan. Karbon disulfida dapat digunakan sebagai pelarut sampai panjang gelombang 250  $\text{cm}^{-1}$ , kecuali untuk panjang gelombang 2400  $\text{cm}^{-1}$ , 2000  $\text{cm}^{-1}$  dan 1800—1300  $\text{cm}^{-1}$ .

### Persiapan zat uji

Zat cair dapat diuji langsung atau dilarutkan dalam pelarut yang sesuai. Zat padat biasanya disiapkan dengan cara dispersi dalam parafin cair atau cakram kalium bromida. Cara menyiapkan zat uji dilakukan sebagai berikut :

#### Prosedur-1

Teteskan sedikit zat cair di antara 2 lempeng natrium klorida sampai terbentuk lapisan tipis, atau masukkan zat cair ke dalam kuvet dengan tebal yang sesuai.

#### Prosedur-2

Gerus 20 mg zat dengan 2 tetes parafin cair atau cairan yang sesuai sampai homogen. Letakkan sebagai pasta di antara 2 lempeng natrium klorida atau lempeng lain.

#### Prosedur-3

Gerus zat dengan serbuk halus kalium bromida yang kering, jika alat menggunakan prisma sebagai monokromator dengan perbandingan 1:200 atau jika alat menggunakan kisi sebagai monokromator dengan perbandingan 1:300. Masukkan sebagai campuran dalam cetakan, cetak dengan tekanan tinggi dalam hampa udara.

#### Prosedur-4

Larutkan zat dengan kadar yang sesuai dalam pelarut yang sesuai. Masukkan ke dalam kuvet yang tebalnya sesuai sampai menghasilkan spektrum yang baik.

### Identifikasi menggunakan zat standar

Siapkan zat uji dan zat standar dengan cara yang sama. Spektrum serapan pada panjang gelombang

4000  $\text{cm}^{-1}$  dan 670  $\text{cm}^{-1}$  (2,5  $\mu\text{m}$  dan 15  $\mu\text{m}$ ). Kadar zat harus sedemikian rupa sampai puncak spektrum yang terkuat terletak antara 5%—25% transmittansi. Jika disiapkan dengan prosedur 2 dan 3, letak serapan maksimum zat tidak sesuai dengan zat standar yang disebabkan oleh perbedaan bentuk kristalnya. Dalam hal ini pemeriksaan dapat dilakukan dalam bentuk larutan. Apabila hal ini tidak dapat dilakukan, zat uji dan standar, masing-masing diuapkan sampai kering. Pengujian diulangi menggunakan residu pengeringan. Jika spektrum parafin cair yang digunakan untuk prosedur 2, mengganggu spektrum zat pada daerah tertentu, dibuat dispersi zat dalam pelarut yang lain misalnya senyawa fluorohidrokarbon atau heksaklorobutadiena, untuk spektrum pada daerah di mana terjadi gangguan parafin cair.

### Identifikasi menggunakan spektrum standar

Siapkan zat uji seperti cara yang tertera pada spektrum standar yang bersangkutan, dan spektrum dari 400  $\text{cm}^{-1}$ —670  $\text{cm}^{-1}$ . Dalam hal ini skala panjang gelombang dari alat harus dikalibrasi menggunakan selaput polistiren.

## Standar

Zat standar yang digunakan sebagai standar dalam penetapan menggunakan prosedur yang sesuai, misalnya spektrofotometri dan kromatografi.

Zat standar tidak boleh digunakan sebagai obat. Kecuali dinyatakan lain, standar harus dikeringkan sebelum digunakan seperti cara yang tertera pada etiket untuk masing-masing zat.

Standar yang digunakan mampu telusur ke International Unit (IU).

Zat standar dalam rentang waktu tertentu harus dikalibrasi ulang.

Zat standar harus disimpan sesuai dengan spesifikasinya.

Zat standar yang sudah diencerkan disimpan pada suhu tertentu dan rentang waktu tertentu, sesuai dengan spesifikasinya.

Zat standar tidak boleh digunakan untuk pengujian rutin.

Zat standar yang dipergunakan untuk pengujian rutin adalah turunan atau bahan murni yang telah dikalibrasi terhadap standar.

## Titration

### Titration Bebas Air

#### Prosedur I untuk basa dan garamnya.

Kecuali dinyatakan lain, larutkan zat seperti yang tertera pada masing-masing monografi dalam volume



asam asetat glasial yang sebelumnya telah dinetralkan dengan asam perklorat 0,1 M menggunakan indikator kristal violet. Jika perlu, hangatkan dan dinginkan. Jika zat uji berupa garam halogenida, tambah 10 ml larutan raksa (II) asetat. Titrasi dengan asam perklorat 0,1 M sampai perubahan warna indikator sesuai dengan nilai maksimum  $dE/dV$  jika titrasi dilakukan secara potensiometrik,  $E$  adalah daya elektromotif dalam mV dan  $V$  adalah volume dalam ml. Jika digunakan indikator lain, indikator tersebut harus pula digunakan untuk menetralkan asam asetat glasial, larutan raksa (II) asetat dan untuk pembakuan asam perklorat. Jika titik akhir titrasi ditetapkan secara potensiometrik, dapat digunakan elektroda kaca sebagai elektroda indikator dan elektroda kalomel sebagai elektroda standar. Hasil akan lebih baik jika larutan kalium klorida jenuh pada elektroda kalomel diganti dengan litium perklorat (1% b/v) dalam asam asetat glasial.

### Prosedur II untuk asam

Lakukan titrasi menggunakan zat uji, pelarut, titran dan indikator seperti yang tertera pada masing-masing monografi. Netralkan pelarut terhadap indikator menggunakan penitar yang akan digunakan untuk titrasi. Selama penetapan larutan harus terlindung dari karbondioksida dengan mengalirkan nitrogen di atas larutan. Jika perlu hangatkan larutan zat. Titrasi sampai perubahan warna indikator sesuai dengan nilai maksimum  $dE/dV$  jika titrasi dilakukan secara potensiometrik,  $E$  adalah daya elektromotif dalam mV dan  $V$  adalah volume titran dalam ml. Jika titik akhir titrasi ditetapkan secara potensiometrik, dapat digunakan elektroda kaca sebagai elektroda indikator dan elektroda kalomel sebagai elektroda standar. Hasil akan lebih baik jika larutan kalium klorida jenuh pada elektroda kalomel diganti dengan larutan kalium klorida jenuh dalam metanol.

## Titration Kompleksometri

Titration kompleksometri adalah titration berdasarkan pembentukan senyawa kompleks antara kation dengan zat pembentuk kompleks. Sebagai zat pembentuk kompleks yang banyak digunakan dalam titration kompleksometri adalah garam dinatrium etilendiamina tetraasetat (dinatrium EDTA). Kestabilan dari senyawa kompleks yang terbentuk tergantung dari sifat kation dan pH dari larutan, oleh karena titration harus dilakukan pada pH tertentu. Untuk memantapkan titik akhir titration digunakan indikator logam, yaitu indikator yang dapat membentuk senyawa kompleks dengan ion logam. Ikatan kompleks antara indikator dan ion logam harus lebih lemah dari pada ikatan kompleks larutan penitar dan ion logam. Larutan indikator bebas mempunyai warna yang berbeda dengan larutan indikator kompleks. Indikator yang banyak digunakan dalam titration kompleksometri adalah kalkon, asam kalkon karboksilat, hitam eriokrom T dan silenol orange. Titrasi langsung, untuk logam yang cepat dapat membentuk senyawa kompleks, sedangkan titration kembali untuk yang lambat membentuk senyawa kompleks. Prosedur titration untuk beberapa logam

sebagai berikut :

### Aluminium

Larutkan zat uji yang ditimbang seperti yang tertera pada monografi dalam 2 ml asam hidroklorida 1 M dan 50 ml air, tambah 50,0 ml dinatrium edetat 0,05 M, netralkan dengan natrium hidroksida 1 M menggunakan indikator larutan merah metil. Didihkan larutan, biarkan di atas penangas air selama 10 menit, dinginkan dan tambah 5 g heksamida. Titrasi dengan timbal nitrat 0,05 M menggunakan indikator sekitar 50 mg silenol orange, sampai terbentuk warna merah muda. Setiap ml dinatrium edetat 0,05 M setara dengan 1,349 mg Al.

### Bismut

Larutkan zat uji yang ditimbang seperti yang tertera pada monografi dalam sedikit asam nitrat encer, tambah 50 ml air dan atur pH 1—2 dengan asam nitrat encer atau amonia encer. Titrasi dengan dinatrium edetat 0,05 M menggunakan indikator 50 mg silenol orange, sampai terbentuk warna kuning. Setiap ml dinatrium edetat 0,05 M setara dengan 10,45 mg Bi.

### Kalsium

Larutkan zat uji yang ditimbang seperti yang tertera pada monografi dalam air, jika perlu asamkan dengan sedikit asam hidroklorida encer, encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml. Titrasi dengan dinatrium edetat 0,05 M. Pada 2 ml sebelum titik akhir titration, tambah 4 ml natrium hidroksida (30% b/v), 100 mg kalkon atau asam kalkon karboksilat dan kocok. Lanjutkan titration sampai terbentuk warna biru. Setiap ml dinatrium edetat 0,05 M setara dengan 2,004 mg Ca.

### Magnesium

Larutkan zat uji yang ditimbang seperti yang tertera pada monografi dalam 5—10 ml air, jika perlu asamkan dengan sedikit asam hidroklorida encer, encerkan dengan air sampai batas volume 50 ml, dan tambah 10 ml dapar amonium klorida pH 10. Titrasi dengan dinatrium edetat 0,05 M menggunakan 100 mg hitam mordan sebagai indikator, sampai terbentuk warna hijau. Setiap ml dinatrium edetat setara dengan 1,215 mg Mg.

### Seng

Larutkan zat uji yang ditimbang seperti yang tertera pada monografi dalam 5—10 ml air. Jika perlu, asamkan dengan asam asetat, encerkan dengan air sampai batas volume 50 ml, dan tambah 50 mg silenol orange dan 5 g heksamida, sampai terbentuk warna merah. Titrasi dengan dinatrium edetat 0,05 M sampai terbentuk warna kuning. Setiap ml dinatrium edetat 0,05 M setara dengan 3,268 mg Zn.

### Timbal

Larutkan zat uji yang ditimbang seperti yang tertera pada monografi dalam 5—10 ml air. Jika perlu, asamkan dengan sedikit asam asetat, encerkan dengan air sampai batas volume 50 ml. Tambah 50 mg silenol orange dan 5 g heksamida, sampai terbentuk warna merah. Titrasi dengan dinatrium asetat 0,05 M sampai

terbentuk warna kuning. Setiap ml dinatrium asetat 0,05 M setara dengan 70,35 mg Pb.

### Nitrimetri

Timbang 500 mg atau seperti yang tertera pada monografi, tambah 20 ml asam hidroklorida dan 50 ml air, aduk sampai larut, dinginkan sampai suhu 15°C. Titrasi dengan natrium nitrit 0,1 M, tentukan titik akhir secara potensiometri menggunakan elektroda natrium atau elektroda yang sesuai. Letakkan ujung buret di bawah permukaan larutan untuk menghindari oksidasi udara terhadap natrium nitrit. Aduk perlahan-lahan menggunakan pengaduk magnetik, tanpa menimbulkan putaran gelembung udara di bawah permukaan larutan. Selama titrasi, pertahankan pada suhu 15°C. Jika mendekati titik akhir, tiap selang waktu sekitar 1 menit, tambah 0,1 ml natrium nitrit 0,1 M sampai jarum kembali pada tempat semula.

## Uji Batas

### Arsen

Pengujian ini dimaksudkan untuk menunjukkan batas cemaran arsen yang masih diperbolehkan.

#### Peralatan

Botol 120 ml mulut lebar, sumbat dengan karet yang ditembus pipa kaca, panjang 200 mm, diameter dalam 6,5 mm, diameter luar  $\pm 8$  mm dan ujung bawah disempitkan sampai diameter dalam  $\pm 1$  mm. Pada dinding pipa dekat bagian yang disempitkan dibuat sebuah lubang diameter tidak kurang dari 2 mm. Ujung atas dipotong rata dan dihaluskan dengan pembakaran atau diasah. Jika botol diisi dengan 70 ml cairan, ujung yang disempitkan harus berada di atas permukaan cairan, sedangkan lubang samping berada di bawah sumbat. Dua buah sumbat karet ukuran sekitar 25 mm, masing-masing berlubang di bagian tengah dengan diameter 6,5 mm dihubungkan dengan penjepit pegas atau penjepit lainnya yang sesuai. Sumbat karet tersebut dapat diganti seperti yang tertera pada pengujian.

#### Pereaksi

- **Amonium oksalat.** Panaskan 5 g dengan 15 ml air, 5 ml asam nitrat dan 10 ml asam sulfat dalam labu dasar bulat leher pendek sampai mendidih, dinginkan dan lanjutkan pengujian seperti cara yang tertera pada pengujian, tidak terjadi bercak.
- **Larutan arsen pekat.** Larutkan 1,32 g arsen trioksida dalam 50 ml asam hidroklorida, tambah air sampai batas volume 100,0 ml.
- **Larutan arsen encer.** Encerkan 1,0 ml larutan dengan air sampai batas volume 100,0 ml. Setiap ml larutan arsen encer mengandung 100  $\mu$ g As. Larutan harus segar.
- **Asam hidroklorida (32%).** Memenuhi syarat berikut: (A). Encerkan 10,0 ml dengan air sampai

batas volume 50,0 ml, tambah 5,0 ml larutan amonium tiosianat, aduk, tidak terbentuk warna. (B). Pada 50,0 ml, tambah 0,2 ml air brom, uapkan di atas penangas air sampai residu 16 ml. Jika perlu, tambah air brom sampai selama penguapan tetap terdapat kelebihan brom yang dapat diketahui dari warnanya. Tambah 50 ml air dan 5 tetes larutan timah (II) klorida, lanjutkan seperti yang tertera pada pengujian; bercak yang terbentuk tidak lebih kuat dari bercak standar yang dibuat dengan 0,2 ml larutan arsen encer; menunjukkan As tidak lebih dari 0,05 ppm.

- **Asam hidroklorida brom.** Campur 1,0 ml air brom dan 100,0 ml asam hidroklorida.
- **Asam hidroklorida timah.** Campur dari 1,0 ml larutan timah (II) klorida dan 100,0 ml asam hidroklorida.
- **Asam nitrat.** Panaskan 20,0 ml dalam cawan porselen dengan 2,0 ml asam sulfat sampai asap putih hilang, dinginkan. Tambah 2,0 ml air, panaskan lagi sampai asap putih hilang, dinginkan. Tambah 50,0 ml air dan 10,0 ml asam hidroklorida timah, lanjutkan seperti yang tertera pada pengujian; tidak terjadi bercak.
- **Asam sulfat.** Encerkan 10,0 g dengan 50,0 ml air, tambah 0,2 ml larutan timah (II) klorida, lanjutkan seperti yang tertera pada pengujian; tidak terjadi bercak.
- **Air brom.** Larutkan 30,0 g brom dan 30,0 g kalium bromida dalam air sampai batas volume 100,0 ml. Air brom memenuhi syarat berikut: Uapkan 10,0 ml di atas penangas air sampai mendekati kering, tambah 50,0 ml air, 10,0 ml asam hidroklorida dan larutan timah (II) klorida, sampai residu brom hilang. Lanjutkan seperti yang tertera pada pengujian, bercak yang terbentuk tidak lebih kuat dari bercak standar yang dibuat dengan 1,0 ml larutan arsen encer, menunjukkan As tidak lebih dari 1 ppm.
- **Kalium iodida.** Larutkan 10,0 g dalam 25,0 ml asam hidroklorida dan 35,0 ml air, tambah 2 tetes larutan timah (II) klorida, lanjutkan seperti yang tertera pada pengujian, tidak terjadi bercak.
- **Kalium klorat.** Campur dalam suasana dingin 5,0 g dengan 20,0 ml air dan 22,0 ml asam hidroklorida, setelah reaksi selesai, hilangkan klor dengan pemanasan hati-hati, kemudian tambah beberapa tetes larutan timah (II) klorida, sampai residu klor hilang. Tambah 20,0 ml air, lanjutkan seperti yang tertera pada pengujian, tidak terjadi bercak.
- **Natrium karbon anhidrat.** Larutkan 5,0 g dalam 50,0 ml air, tambah 20,0 ml asam hidroklorida brom, tambah beberapa tetes larutan timah (II) klorida, sampai kelebihan brom hilang, lanjutkan seperti yang tertera pada pengujian, tidak terjadi bercak.
- **Seng.** Tambah 10,0 ml asam hidroklorida timah dalam 50,0 ml air, lanjutkan seperti yang tertera pada pengujian menggunakan 10,0 g seng butir

biarkan selama 1 jam, tidak terjadi bercak. Ulangi pengujian, tambah 0, 1 ml larutan arsen encer, terbentuk bercak kuning pucat.

- **Larutan timah (II) klorida.** Campur larutan timah (II) klorida dengan asam hidroklorida volume yang sama, dididihkan sampai volume sama, saring dengan kertas saring halus. Larutan timah (II) klorida memenuhi syarat berikut : Pada 10,0 ml, tambah 6,0 ml air dan 10,0 ml asam hidroklorida, sulingkan sampai volume 16,0 ml. Pada sulingan, tambah 50,0 ml air dan 2 tetes larutan timah (II) klorida, lanjutkan seperti yang tertera pada pengujian; bercak yang terbentuk tidak lebih kuat dari bercak standar yang dibuat dengan 1,0 ml larutan arsen encer, menunjukkan As tidak lebih dari 1 ppm.

### Pengujian

Basahi kapas dengan larutan timbal (II) asetat dan keringkan, masukkan ke dalam pipa kaca sampai permukaan atas kapas tidak kurang dari 25 mm di bawah ujung pipa. Masukkan ujung atas pipa sepanjang 10 mm ke dalam salah satu sumbat karet. Letakkan selembar kertas raksa (II) klorida pada permukaan sumbat bagian atas. Letakkan sumbat lain di atasnya, rapatkan dengan penjepit pegas sampai lubang kedua sumbat membentuk sebuah saluran lurus disekat oleh kertas raksa (II) klorida. Penjepit dapat dilakukan dengan cara lain, (1) seluruh gas harus keluar melalui kertas, (2) bagian kertas yang kena gas berupa lingkaran diameter 6,5 mm, (3) kertas terlindung dari cahaya matahari selama pengujian. Masukkan larutan uji ke dalam botol, tambah 1,0 g kalium iodida dan 10,0 g seng, pasang segera pipa, biarkan selama 40 menit. Terbentuk bercak kuning pada kertas raksa (II) klorida jika terdapat arsen, dibandingkan pada cahaya matahari terhadap bercak standar yang dihasilkan dengan cara kerja dan waktu yang sama menggunakan larutan arsen encer dengan kadar yang telah diketahui. Perbandingan bercak dilakukan dengan segera. Bercak standar yang digunakan harus segar. Dengan membandingkan tingkat warna terhadap bercak standar, kadar arsen dapat ditetapkan. Jika digunakan 10,0 g zat uji dan dibandingkan dengan bercak standar menggunakan 1,0 ml larutan arsen encer, bercak yang terbentuk menunjukkan arsen 1 ppm.

Pengujian dapat dipercepat dengan meletakkan botol di atas permukaan yang hangat, umumnya bersuhu tidak lebih dari 40°C, sambil dijaga agar kertas raksa (II) klorida tetap kering selama pengujian. Tabung dibilas dengan asam hidroklorida, kemudian dengan air dan keringkan setiap kali akan digunakan.

Bercak standar adalah bercak pada kertas raksa (II) klorida yang terbentuk seperti yang tertera pada pengujian menggunakan larutan yang dibuat sebagai berikut: Kecuali dinyatakan lain. Pada 50,0 ml air, tambah 10,0 ml asam klorida timah dan 1,0 ml larutan arsen.

### Larutan uji

- **Amonia.** Tidak lebih dari 0,4 ppm. Uapkan 25,0 ml di atas penangas air sampai volume 5 ml, tambah

40,0 ml air dan 15,0 ml asam hidroklorida brom, tambah beberapa tetes larutan timah (II) klorida sampai kelebihan brom hilang.

- **Asam asetat.** Tidak lebih dari 1 ppm. Campur 10,0 g dengan 50,0 ml air dan 10,0 ml asam hidroklorida timah.
- **Asam laktat.** Tidak lebih dari 1 ppm. Campur 10,0 g zat uji dengan 50,0 ml air, tambah 10,0 ml asam hidroklorida timah.
- **Asam sitrat.** Tidak lebih dari 1 ppm. Larutkan 10,0 g zat uji dalam 50,0 ml air, tambah asam hidroklorida timah.
- **Asam sitrat anhidrat.** Tidak lebih dari 1 ppm. Larutkan 10,0 g zat uji dalam 50,0 ml air, tambah 10,0 ml asam hidroklorida timah.
- **Asam sulfat.** Tidak lebih dari 4 ppm. Larutkan 2,5 g dengan 50 ml air, tambah 8 ml asam hidroklorida timah.
- **Asam tartrat.** Tidak lebih dari 1 ppm. Larutkan 10 g dalam 50 ml air, tambah 10 ml asam hidroklorida timah.
- **Belerang.** Tidak lebih dari 2 ppm. Panaskan 5,0 g zat uji dengan 50,0 ml air dan 5,0 ml amonia encer di atas penangas air selama 1 jam, saring, uapkan hasil saringan sampai kering. Dididihkan residu dengan 1 g natrium karbonat anhidrat dan 10,0 ml air, tambah dalam keadaan panas tetes demi tetes larutan brom sampai terbentuk warna campuran kuning. Tambah 5,0 ml asam hidroklorida, dididihkan perlahan lahan sampai brom hilang, tambah beberapa tetes larutan timah (II) klorida sampai residu brom hilang. Tambah 50,0 ml air dan 8,0 ml asam hidroklorida timah.
- **Besi dekstran injeksi.** Tidak lebih dari 2 ppm. Pada 5,75 g dalam labu dasar bulat leher panjang, tambah 10 ml air dan 10 ml asam nitrat dan panaskan sampai terjadi asap coklat kuat. Dinginkan, tambah 10,0 ml asam sulfat dan panaskan lagi sampai terjadi asap dengan menambahkan asam nitrat tetes demi tetes sampai oksidasi sempurna. Dinginkan, tambah 30 ml air, dididihkan sampai volume 20 ml. Dinginkan, encerkan dengan air sampai volume 30,0 ml. Gunakan sebagian larutan untuk uji batas arsen dan bagian lainnya untuk uji batas timbal. Dididihkan perlahan lahan 20,0 ml larutan sampai volume 15 ml, dinginkan, tambah 15,0 ml asam hidroklorida timah dan 3 ml larutan timah (II) klorida. Sulingkan 15 ml ke dalam 25 ml air. Pada sulingan, tambah beberapa tetes air brom, hilangkan kelebihan brom dengan beberapa tetes larutan timah (II) klorida, tambah 20,0 ml air. Gunakan 0,8 ml bercak standar.
- **Biru metilen.** Tidak lebih dari 8 ppm. Pada 5,0 g, lakukan seperti yang tertera pada hijau berlian, menggunakan 10,0 ml alikuot sebagai pengganti 20,0 ml. Tambah 5,0 ml air dan 10,0 ml asam hidroklorida timah. Sulingkan 20 ml, pada sulingan tambah 3 tetes larutan timah (II) klorida dan 40,0 ml air.
- **Gelatin.** Tidak lebih dari 2 ppm. Pada 5,0 g, tambah

10,0 ml air, biarkan selama 1 jam. Hangatkan sampai larut, tambah 10,0 ml asam klorida dan air brom sedikit berlebihan. Tambah 2,0 ml asam hidroklorida timah, refluks selama 1 jam, dinginkan, tambah 10,0 ml air dan 10,0 ml asam hidroklorida.

- **Gliserol.** Tidak lebih dari 2 ppm. Larutkan 5,0 g zat uji dengan 50,0 ml air, tambah 10,0 ml asam hidroklorida timah.
- **Glukosa.** Tidak lebih dari 1 ppm. Pada 10,0 g, lakukan seperti yang tertera pada asam sitrat.
- **Hijau berlian.** Tidak lebih dari 4 ppm. Larutkan 5,0 g dengan 200,0 ml air, dalam botol dasar bulat mulut lebar, tambah 15,0 ml asam nitrat, dididihkan sampai volume 20,0 ml. Biarkan dingin, tambah 10,0 ml asam sulfat, aduk. Dididihkan, tambah sedikit asam nitrat dan setiap penambahan selalu didinginkan lebih dulu, sampai larutan tak berwarna. Panaskan sampai terbentuk asap putih dan jika terjadi warna gelap, lanjutkan penambahan asam nitrat dan panaskan selama 1 jam. Dinginkan, tambah 25,0 ml larutan jenuh amonium oksalat, dididihkan sampai terjadi buih halus. Dinginkan, encerkan dengan air sampai volume 40,0 ml. Gunakan sebagian larutan untuk uji batas arsen dan bagian lain untuk uji batas timbal. Pada 20,0 ml larutan, tambah 10,0 ml asam hidroklorida timah, sulingkan 20 ml, pada sulingan tambah 3 tetes larutan timah (II) klorida dan 40 ml air.
- **Kalium hidroksida.** Tidak lebih dari 4 ppm. Larutkan 2,5 g dalam 50 ml air, tambah 15,0 ml asam hidroklorida, hilangkan kelebihan brom dengan penambahan beberapa tetes larutan timah (II) klorida.
- **Kalsium karbonat.** Tidak lebih dari 4 ppm. Larutkan 2,5 g dalam 15,0 ml asam hidroklorida brom dan 45,0 ml air. Tambah larutan timah (II) klorida sampai kelebihan brom hilang.
- **Kalsium laktat.** Tidak lebih dari 2 ppm. Larutkan 5 g zat uji dalam 50 ml air, tambah 12 ml asam klorida timah.
- **Kaolin.** Tidak lebih dari 2 ppm. Dispersikan 5 g zat uji dalam 50 ml air, tambah 10 ml asam hidroklorida timah.
- **Kristal violet.** Tidak lebih dari 4 ppm. Pada 5,0 g, lakukan seperti yang tertera pada hijau berlian.
- **Magnesium klorida.** Tidak lebih dari 2 ppm. Larutkan 5,0 g dalam 50,0 ml air, tambah 10,0 ml asam hidroklorida timah.
- **Magnesium sulfat.** Tidak lebih dari 4 ppm. Larutkan 2,5 g zat uji dalam 50,0 ml air, tambah 10,0 ml asam hidroklorida timah.
- **Manitol.** Tidak lebih dari 2 ppm. Larutkan 5,0 g dengan 50,0 ml air dan 10,0 ml asam hidroklorida timah.
- **Natrium asetat.** Tidak lebih dari 2 ppm. Larutkan 5,0 g dalam 50 ml air, tambah 15 ml asam hidroklorida timah.
- **Natrium hidroksida.** Tidak lebih dari 4 ppm. Larutkan 2,5 g dalam cawan porselen dengan 10,0

ml air, 1,25 ml asam hidroklorida brom. Tambah larutan timah (II) klorida sampai kelebihan brom hilang.

- **Natrium metabisulfit.** Tidak lebih dari 4 ppm. Larutkan 2,5 g dalam cawan porselen dengan 10,0 ml air, 1,25 g kalium klorat dan 16 ml asam hidroklorida, panaskan sampai klor hilang. Tambah larutan timah (II) klorida sampai klor hilang tambah 35,0 ml air.
- **Natrium salisilat.** Tidak lebih dari 2 ppm. Campur 5,0 g zat uji dengan 3,0 g natrium karbonat anhidrat dan 10,0 ml air brom, uapkan di atas penangas air sampai kering, pijarkan, dinginkan. Larutkan residu dalam campuran 16 ml asam hidroklorida brom dan 5 ml air brom. Tambah 40 ml air, dididihkan dengan hati hati sambil tambah air brom sampai tetap terdapat brom agar berlebihan selama pendidihan, saring, tambah larutan timah (II) klorida sampai kelebihan brom hilang.
- **Sorbitol.** Tidak lebih dari 1 ppm. Larutkan 10,0 g zat uji dengan 50,0 ml air, tambah 10 ml asam hidroklorida timah.

## Besi

### Peralatan

Gunakan tabung Nessler seperti yang tertera pada uji batas logam berat.

### Pereaksi

- **Amonia.** Uapkan 5,0 ml amonia encer di atas penangas air sampai kering. Tambah 40,0 ml air, 2,0 ml asam sitrat (20% b/v) dan 2 tetes asam tioglikolat, aduk. Basakan dengan amonia encer, encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml, tidak boleh terbentuk warna merah muda.
- **Asam hidroklorida.** Uapkan 5,0 ml di atas penangas air sampai hampir kering. Tambah 40,0 ml air, 2,0 ml asam sitrat (20% b/v) dan 2 tetes asam tioglikolat, aduk. Basakan dengan besi amonia, encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml, tidak boleh terbentuk warna merah muda.
- **Asam sitrat.** Larutkan 500,0 mg dalam 40,0 ml air, tambah 2 tetes asam tioglikolat, aduk, basakan dengan amonia, encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml, tidak terbentuk warna merah muda.
- **Larutan standar besi.** Larutkan besi (III) amonia sulfat dalam 100 ml air, tambah 5,0 ml asam hidroklorida encer dan air sampai batas volume 1000,0 ml. Setiap ml mengandung 1 µg Fe.
- **Larutan standar warna.** Encerkan 2,0 ml larutan standar besi dengan 40,0 ml air, tambah 2,0 ml asam sitrat (20% b/v) dan 2 tetes asam tioglikolat, aduk. Basakan dengan amonia, encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml, biarkan selama 5 menit.
- **Larutan uji.** Kecuali dinyatakan lain, larutkan sejumlah zat uji dalam 35 ml air.

### Pengujian

Pada larutan uji, tambah 2,0 ml asam sitrat (20% b/v) dan 2 tetes asam tioglikolat, aduk. Basakan dengan amonia, encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml, biarkan selama 5 menit. Bandingkan warna larutan uji terhadap larutan standar warna; warna larutan uji tidak lebih kuat intensitas warnanya dibandingkan larutan standar.

### Logam Berat

Pengujian ini dimaksudkan untuk menunjukkan batas cemaran logam yang masih diperbolehkan, yang diwarnai dengan ion sulfida. Pengujian dilakukan dengan membandingkan warna larutan uji terhadap warna larutan standar. Pengujian dilakukan dengan 3 prosedur berikut. Kecuali dinyatakan lain, pengujian dilakukan dengan prosedur I.

**Prosedur I.** Digunakan untuk zat yang larutannya jernih dan tidak berwarna.

**Prosedur II.** Digunakan untuk zat yang larutannya tidak jernih atau tidak berwarna, mengganggu pengendapan logam oleh ion sulfida atau untuk zat berupa minyak lemak atau minyak atsiri.

**Prosedur III.** Digunakan untuk zat yang jernih dan tidak berwarna dengan penambahan larutan natrium hidroksida encer.

### Peralatan

Tabung Nessler adalah tabung yang dibuat dari kaca jernih, dasar datar dan transparan, kecuali dinyatakan lain. Kapasitas volume 50 ml, kecuali dinyatakan lain, cairan dalam tabung diamati dari atas ke bawah searah sumbu vertikal tabung menggunakan dasar putih atau jika perlu menggunakan dasar hitam.

### Pereaksi.

- **Asam hidroklorida**
- **Larutan standar timbal (II) nitrat.** Larutkan 159,8 mg timbal (II)nitrat dalam 100 ml air yang telah ditambahkan 1 ml asam nitrat, encerkan dengan air sampai batas volume 1000,0 ml. Buat dan simpan larutan ini dalam wadah polietilena atau kaca, bebas dari garam timbal terlarut.
- **Larutan standar timbal.** Pada saat digunakan, encerkan 10,0 larutan standar timbal (II) nitrat dengan air sampai batas volume 100,0 ml. Setiap ml larutan standar timbal mengandung setara dengan 10 µg Pb. Larutan standar kontrol yang dibuat dengan 2,0 ml larutan standar timbal, jika dibandingkan terhadap larutan, menunjukkan 1,0 g zat uji setara dengan 0,002% Pb.

### Prosedur I

**Larutan standar.** Pipet 2,0 ml larutan standar timbal ke dalam tabung Nessler, encerkan dengan air sampai batas volume 25,0 ml. Tambah asam asetat encer atau amonia encer sampai pH 3,0—4,0, encerkan dengan air sampai volume 35 ml, aduk.

**Larutan uji.** Ke dalam tabung Nessler, masukkan

25,0 ml larutan yang dibuat seperti yang tertera pada monografi, larutkan dan encerkan zat uji dengan air sampai batas volume 25,0 ml. Zat uji yang ditimbang (g), dihitung dengan rumus  $2/1000 L$  dimana L adalah batas logam berat (%). Tambah asam asetat encer atau amonia encer sampai pH 3,0—4,0, encerkan dengan air sampai volume 35 ml, aduk.

**Pengujian.** Pada masing-masing larutan standar dan larutan uji, tambah 10 ml larutan hidrogensulfida segar, aduk, encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml, biarkan selama 5 menit. Warna larutan uji tidak lebih kuat dari warna larutan standar.

### Prosedur II

**Larutan standar.** Buat seperti yang tertera pada prosedur I.

**Larutan uji.** Kecuali dinyatakan lain, timbang dengan rumus  $2/1000 L$  zat uji, masukkan ke dalam krus, tambah asam sulfat sampai menjadi asam. Pijarkan dengan hati hati pada suhu rendah sampai terbentuk arang sempurna. Tambah 2 ml asam nitrat dan 5 tetes asam sulfat, panaskan dengan hati hati sampai tidak ada lagi asap putih. Pijarkan dalam tanur pada suhu 500° - 600°C sampai arang terbakar sempurna, dinginkan. Tambah 4 ml asam hidroklorida (50% v/v), sumbat, hangatkan di atas penangas air selama 15 menit, buka sumbat, uapkan perlahan lahan di atas penangas air sampai kering. Basahi residu dengan 1 tetes asam hidroklorida, tambah 10 ml air panas, hangatkan di atas penangas air selama 2 menit. Tambah amonia encer tetes demi tetes sampai larutan tepat bereaksi alkali terhadap kertas lakmus, encerkan dengan air sampai batas volume 25,0 ml, tambah asam asetat encer sampai pH 3,0 - 4,0. Saring, bilas krus dan penyaring dengan 10 ml air, campur hasil saringan dan cairan bilasan dalam tabung Nessler, encerkan dengan air sampai volume 35,0 ml, aduk.

**Pengujian.** Lakukan pengujian seperti yang tertera pada prosedur 1.

### Prosedur III

**Larutan standar.** Ke dalam tabung Nessler, pipet 2 ml larutan timbal standar (20 µg Pb), tambah 5 ml larutan natrium hidroksida encer dan encerkan dengan air sampai batas volume 50,ml, aduk.

**Larutan uji.** Ke dalam tabung Nessler, masukkan 25 ml larutan yang dibuat seperti yang tertera pada monografi, atau kecuali dinyatakan lain, larutkan dalam campuran 20 ml air dan 5 ml larutan natrium hidroksida encer, zat uji yang ditimbang dalam g, yang dihitung dengan rumus  $2/100 L$  dimana L adalah batas logam berat (%). Encerkan dengan air secukupnya sampai 50,0 ml, aduk.

**Prosedur.** Pada masing-masing tabung mengandung larutan standar dan larutan uji, tambah 5 tetes larutan natrium sulfida, aduk, biarkan selama 5 menit. Warna larutan uji tidak lebih kuat dari warna larutan standar.

### Timbal

Lakukan dengan salah satu prosedur berikut:

**Prosedur I****Peralatan**

Gunakan tabung Nessler seperti yang tertera pada uji batas logam berat.

**Pereaksi**

- **Amonia encer.** Pada 20,0 ml, tambah 1,0 ml larutan kalium sianida, encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml, tambah 2 tetes larutan natrium sulfida, tidak terbentuk warna kehitaman.
- **Amonia asetat.** Larutkan 2,0 g dalam 25,0 ml air, tambah amonia encer sampai basa, tambah 1,0 ml larutan kalium sianida, encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml. Tambah 2 tetes larutan natrium sulfida, tidak terbentuk warna kehitaman.
- **Amonium oksalat.** Larutkan 2,0 g dalam 25,0 ml air, tambah amonia encer sampai basa, tambah 1,0 ml larutan kalium sianida, encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml. Tambah 2 tetes larutan natrium sulfida, tidak terbentuk warna kehitaman.
- **Asam asetat.** Didihkan 25,0 ml larutan sampai volume 15 ml, dinginkan, tambah amonia encer sampai basa, tambah 1,0 ml larutan kalium sianida, encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml. Tambah 2 tetes larutan natrium sulfida, tidak terbentuk warna kehitaman.
- **Asam hidroklorida encer.** Encerkan 10,0 ml larutan dengan 10,0 ml air, tambah amonia encer sampai basa, tambah 1,0 ml larutan kalium sianida, encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml. Tambah 2 tetes larutan natrium sulfida, tidak terbentuk warna kehitaman.
- **Asam nitrat berasap.** Memenuhi syarat seperti tertera pada asam nitrat.
- **Asam perklorat.** Memenuhi syarat berikut : Pekatkan 10,0 ml sampai volume 2,5 ml, encerkan dengan air sampai volume 20,0 ml. Tambah amonia encer sampai basa, tambah 1,0 ml larutan kalium sianida, encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml. Tambah 2 tetes larutan natrium sulfida, tidak terbentuk warna kehitaman.
- **Asam sitrat.** Larutkan 10,0 g dalam 10,0 ml air, tambah amonia encer sampai basa, tambah 1,0 ml larutan kalium sianida, encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml. Tambah 2 tetes larutan natrium sulfida, tidak terbentuk warna coklat kehitaman.
- **Asam sulfat.** Larutkan 5,0 g dalam 20,0 ml air, tambah amonia encer sampai basa, tambah 1,0 ml larutan kalium sianida, encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml. Tambah 2 tetes larutan natrium sulfida, tidak terbentuk warna coklat kehitaman.
- **Larutan ditizon (0,05% b/v dalam kloroform).** Larutan harus segar.
- **Larutan kalium sianida.** Larutkan 10,0 g kalium sianida dalam 90 ml air, tambah 2,0 ml larutan

hidrogen peroksida, biarkan selama 24 jam, tambah air sampai batas volume 100,0 ml. Larutan memenuhi syarat berikut : Campur 2,0 ml dengan 5,0 ml amonia encer dan 40,0 ml air, tambah 5,0 ml larutan timbal encer, tidak terbentuk warna coklat kehitaman.

- **Larutan natrium hidroksida.** Larutkan 159,8 mg timbal nitrat dalam 5 ml larutan asam nitrat. Encerkan dengan air sampai batas volume 1000 ml. Pembuatan dan penyimpanan dilakukan menggunakan wadah terbuat dari bahan bebas garam timbal terlarut.
- **Larutan timbal encer.** Encerkan 10,0 ml larutan timbal pekat dengan air sampai batas volume 100 ml. Larutan harus segar. Setiap ml larutan mengandung 10 µg Pb.

**Pengujian**

Sediakan larutan primer dan larutan pembantu seperti yang tertera pada larutan uji untuk masing-masing zat uji. Kecuali dinyatakan lain, larutan dibuat menggunakan air panas mengandung asam asetat yang sesuai, jika terbentuk karbon dioksida, hilangkan dengan pendidihan. Pada larutan pembantu, tambah larutan timbal encer seperti tertera pada larutan uji. Jika perlu masing-masing, tambah amonia encer sampai basa, tambah 1 ml larutan kalium sianida. Larutan hanya boleh beropalesensi lemah. Jika warna kedua larutan berbeda, warna harus disamakan dengan penambahan beberapa tetes larutan karamel yang sangat encer atau zat lain yang tidak bereaksi. Pada masing-masing larutan, tambah air sampai batas volume 50 ml, tambah 0,1 ml larutan natrium sulfida, kocok. Bandingkan warna dengan cara yang sesuai menggunakan latar belakang putih, jika warna larutan primer lebih kuat dari warna larutan pembantu, zat uji mengandung timbal yang jumlahnya melebihi batas yang diperbolehkan. Kadar timbal dalam zat uji dapat ditetapkan dengan menetapkan jumlah larutan timbal encer yang harus ditambahkan ke dalam larutan pembantu dan diencerkan dengan air sampai batas volume 50 ml, tambah 0,1 ml larutan natrium sulfida, warna kedua larutan sama. Jika diperlukan lebih dari 15 ml larutan timbal encer, pengujian harus diulangi menggunakan zat uji lebih sedikit.

**Larutan uji**

- **Asam nikotinat.** Batas tidak lebih dari 10 ppm.  
**Larutan primer.** Larutkan 7 g dalam air panas secukupnya, basakan dengan amonia encer, tambah 5 ml asam asetat.  
**Larutan pembantu.** Lakukan seperti pembuatan larutan primer menggunakan 2 g zat. Larutan timbal encer 5 ml.
- **Gliserol.** Batas tidak lebih dari 1 ppm.  
**Larutan primer.** Larutkan 12 g dalam air panas secukupnya, tambah 5 ml asam asetat.  
**Larutan pembantu.** Lakukan seperti cara pembuatan larutan primer menggunakan 2 g zat. Larutan timbal encer 1 ml.

- **Natrium hidroksida.** Batas tidak lebih dar 5 ppm.  
**Larutan primer.** Larutkan 4 g dalam air panas secukupnya, tambah 20 ml asam asetat.  
**Larutan pembantu.** Larutkan 2 g dalam air panas secukupnya, tambah 12 ml asam asetat. Larutan timbal encer 1 ml.
- **Natrium salisilat.** Batas tidak lebih dari 10 ppm.  
**Larutan primer.** Larutkan 7 g dalam air panas secukupnya, basakan dengan amonia encer, tambah 12 ml asam asetat.  
**Larutan pembantu.** Lakukan seperti cara pembuatan larutan primer menggunakan 2 g zat dan 7 ml asam asetat. Larutan timbal encer 5 ml.
- **Prokainamid hidroklorida.** Batas tidak lebih dari 5 ppm.  
**Larutan primer dan larutan pembantu.** Larutkan dalam 45 ml air hangat dan tambah 1 g amonium asetat, masing-masing 3 g zat untuk larutan primer dan 1 g zat untuk larutan pembantu, tambah masing-masing 1 ml asam asetat. Larutan timbal encer 1 ml.
- **Sorbitol.** Batas tidak lebih dari 2 ppm.  
**Larutan primer.** Larutkan 12 g dalam air panas secukupnya, tambah 5 ml asam asetat.  
**Larutan pembantu.** Lakukan seperti pembuatan larutan primer menggunakan 2 g zat. Larutan timbal encer 2 ml.
- **Sulfadiazin.** Batas tidak lebih dari 10 ppm. Larutan timbal encer 1 ml.
- **Sulfadimetoksin.** Batas tidak lebih dari 10 ppm.  
**Larutan primer dan larutan pembantu.** Lakukan seperti pembuatan yang tertera pada sulfadiazin. Larutan timbal encer 1 ml.  
**Larutan primer.** Larutkan 2,0 g dalam campuran 7 ml larutan natrium hidroksida dan air. Larutan pembantu : Larutkan 1,0 g dalam campuran 7 ml larutan natrium hidroksida dan air.
- **Larutan standar ditizon.** Larutkan 10 mg ditizon dalam 1000 ml kloroform. Simpan larutan dalam botol bebas timbal bersumbat kaca, lindungi dari cahaya dan dalam lemari es.
- **Larutan hidroksilamin hidroklorida.** Larutkan 20 mg hidroksilamin hidroklorida dalam air sampai volume 65 ml. Pindahkan ke dalam labu pisah, tambah beberapa tetes larutan biru timol dan amonia sampai terbentuk warna kuning. Tambah beberapa tetes natrium dietilditiokarbamat (4% b/v), aduk, biarkan selama 5 menit. Ekstrak larutan tiap kali dengan 10—15 ml kloroform. Pada 5 ml ekstrak kloroform, jika dikocok dengan larutan tembaga (II) sulfat, tidak berwarna kuning. Tambah asam hidroklorida encer sampai terbentuk warna merah muda. Jika perlu, tambah 1 atau 2 tetes larutan biru timol dan encerkan dengan air sampai batas volume 100,0 ml.
- **Larutan kalium sianida.** Larutkan 50 g kalium sianida dalam air sampai batas volume 100,0 ml. Hilangkan timbal dengan mengekstrak menggunakan larutan ditizon seperti yang tertera pada larutan amonium sitrat kemudian ekstrak dengan kloroform. Encerkan larutan sianida dengan air sampai mengandung 10 µg/100 ml kalium sianida.
- **Larutan timbal.** Encerkan 10,0 ml larutan timbal (II) nitrat dengan air sampai volume 10,0 ml. Larutan harus segar. Setiap ml larutan timbal setara dengan 10 ug Pb. Larutan standar yang dibuat dengan 2,0 ml larutan timbal jika dibandingkan terhadap larutan yang mengandung 1,0 g zat uji, menunjukkan jumlah setara 20 ppm.
- **Larutan timbal (II) nitrat.** Larutkan 159,8 mg timbal (II) nitrat dalam 10 ml air yang telah ditambahkan 1 ml asam nitrat, encerkan dengan air sampai batas volume 1000,0 ml. Buat dan simpan larutan ini dalam wadah polietilen atau kaca yang bebas dari garam timbal terlarut.

#### Prosedur

Pindahkan ke dalam labu pisah sejumlah volume larutan uji seperti yang tertera pada masing-masing monografi dan kecuali dinyatakan lain, tambah 6 ml larutan amonium sitrat dan 2 ml larutan hidroksilamin hidroklorida. Untuk penetapan timbal dalam garam besi, gunakan 10 ml larutan amonium sitrat. Tambah 2 tetes larutan merah fenol dan amonia sampai basa. Jika perlu, dinginkan larutan, tambah 2 ml larutan kalium sianida. Ekstrak tiap kali dengan 5 ml larutan ditizon sampai terbentuk warna hijau, alirkan tiap ekstrak ke dalam labu pisah yang lain. Kocok larutan ditizon selama 30 detik dengan 20 ml asam nitrat (1% v/v) dan buang lapisan kloroform. Pada larutan asam, tambah 5,0 ml larutan standar ditizon dan 4 ml larutan amonium sianida, kocok selama 30 detik. Lapisan kloroform berwarna violet tidak lebih kuat dari warna larutan standar yang dibuat dengan volume larutan timbal encer setara dengan jumlah timbal yang diperbolehkan dalam zat uji dengan jumlah pereaksi dan prosedur yang sama.

#### Prosedur II

Simpan semua pereaksi dalam wadah kaca borosilikat. Bilas semua alat dengan asam nitrat encer (50% v/v) hangat, kemudian dengan air.

#### Pereaksi

- **Larutan amonium sianida.** Larutkan 2 g kalium sianida dalam 15 ml amonia, encerkan dengan air sampai batas volume 100,0 ml.
- **Larutan amonium sitrat.** Larutkan 40 g asam sitrat dalam 90 ml air. Tambah 2 tetes larutan merah fenol dan amonia dengan hati hati sampai terbentuk warna kemerahan. Hilangkan timbal yang ada dengan mengekstrak larutan tiap kali dengan 20 ml larutan ditizon sampai terbentuk warna hijau orange.
- **Larutan timbal encer.** Encerkan 10,0 ml larutan timbal dengan asam nitrat (1%v/v) sampai batas volume 100,0 ml. Larutan mengandung 1 µg/ml Pb.

## Selenium

**Larutan stok.** Larutan 40,0 mg selenium dalam 10 ml asam nitrat 33% v/v, jika perlu panaskan dengan hati-hati di atas penangas air sampai larut, tambah air sampai batas volume 1000 ml, aduk. Pada 5,0 ml larutan, tambah air sampai batas volume 200,0 ml, aduk. Larutan mengandung 1 µg/ml.

**Larutan standar.** Pada 6,0 ml larutan stok, tambah 50 ml asam nitrat 1,67% v/v.

**Larutan uji.** Lakukan pembakaran seperti yang tertera pada pembakaran labu oksigen dan 25,0 ml larutan asam nitrat 33,3% v/v sebagai cairan penjerap. Setelah pembakaran selesai, tambah beberapa ml air di atas sumbat, buka sumbat dengan hati-hati. Bilas sumbat, kaca platina dan dinding gelas kimia dengan 25 ml air. Pindahkan larutan ke dalam gelas kimia 150 ml, panaskan dengan hati-hati sampai mendidih, biarkan mendidih selama 10 menit, dinginkan sampai suhu kamar.

**Larutan blanko.** Pada 50 ml larutan asam nitrat (1,67% v/v).

### Prosedur

Larutan standar, larutan uji dan larutan blanko disiapkan secara bersamaan sebagai berikut: Pada masing-masing larutan, tambah larutan amonia (33% v/v) sampai pH 2,0. Tambah 200 ml hidrosilamin hidroklorida, kocok perlahan-lahan sampai larut, tambah 5,0 ml larutan diaminofalein, aduk. Sumbat gelas dengan kaca arloji, biarkan pada suhu kamar selama 100 menit. Pindahkan larutan ke dalam labu pisah, bilas gelas dengan 10 ml air. Ekstrak dengan 5,0 ml sikloheksan, kocok selama 2 menit, biarkan terpisah, buang lapisan air. Sentrifus ekstrak sikloheksan untuk memisahkan residu air. Ukur maksimum serapan pada panjang gelombang 380 nm, gunakan sikloheksan yang diperoleh dari larutan blanko sebagai blanko, jika digunakan 200,0 mg zat uji, serapan larutan uji tidak lebih besar dari serapan larutan standar, jika digunakan 100,0 mg zat uji, serapan larutan uji tidak lebih besar dari setengah serapan larutan standar.

## Klorida

### Peralatan

Tabung Nessler seperti yang tertera pada uji batas logam berat. Standar opalesensi. Pipet 1,0 ml asam hidroklorida 0,01 M dan 10,0 ml asam nitrat encer. Encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml, tambah 10,0 ml larutan perak nitrat, aduk, biarkan selama 5 menit.

### Prosedur

Larutkan zat uji dalam air atau buat larutan uji seperti yang tertera pada masing-masing monografi, masukkan ke dalam tabung Nessler. Tambah 10,0 ml asam nitrat encer, kecuali jika pada pembuatan larutan uji telah ditambahkan asam nitrat. Encerkan dengan air sampai batas volume 50,0 ml, tambah 1,0 ml larutan perak nitrat, aduk, biarkan selama 5 menit. Opalesensi

yang terbentuk tidak lebih kuat dari opalesensi standar. Amati dengan arah tegak lurus terhadap tabung.

## Sulfat

### Peralatan

Gunakan tabung Nessler seperti yang tertera pada uji batas logam berat.

### Pereaksi

- **Suspensi barium sulfat.** Campur 15,0 ml barium klorida 0,5 M, 55,0 ml air dan 20,0 ml etanol (95%) bebas sulfat. Tambah 5,0 ml larutan kalium sulfat (0,0181% b/v), encerkan dengan air sampai batas volume 100 ml, aduk. Larutan harus segar.
- **Barium klorida 0,5 M.** Larutkan 122,1 g barium klorida dalam air sampai batas volume 1000 ml.
- **Etanol (95%) bebas sulfat.** Memenuhi syarat berikut: Uapkan 25 ml etanol (95%) sampai volume 2 ml. Sisa memenuhi uji batas sulfat dengan standar opalesensi menggunakan campuran 2,0 ml asam hidroklorida encer dan 43,0 ml air yang mengandung 5,0 ml suspensi barium sulfat.
- **Standar opalesensi.** Pipet 1,25 ml asam sulfat 0,01 M dan 2,0 ml asam hidroklorida encer ke dalam tabung Nessler. Encerkan dengan air sampai volume 45,0 ml, tambah 5,0 ml suspensi barium sulfat, aduk, biarkan selama 5 menit.
- **Larutan uji.** Kecuali dinyatakan lain, dibuat dengan melarutkan zat uji ke dalam air.

### Pengujian

Masukkan larutan uji ke dalam tabung Nessler, tambah 2,0 ml asam hidroklorida encer, kecuali jika pada pembuatan larutan uji telah digunakan asam hidroklorida. Encerkan dengan air sampai volume 45,0 ml, tambah 5,0 ml suspensi barium sulfat, aduk, biarkan selama 5 menit. Amati dengan arah tegak lurus terhadap tabung, opalesensi yang terbentuk tidak lebih kuat dari standar opalesensi.

## Uji Keamanan Hayati

### Uji Sterilitas

Pengujian dilakukan dengan cara yang dirancang untuk menjamin tidak terjadinya kontaminasi mikroba. Untuk sediaan yang disterilkan dalam otoklaf pada suhu di atas 121°C, jumlah contoh yang digunakan dapat dikurangi. Jika isi tiap wadah 250 ml atau lebih, jumlah contoh yang digunakan dapat dikurangi menjadi 3. Jika isi tiap wadah kurang dari 1 ml cairan atau kurang dari 50 mg zat padat, jumlah contoh yang digunakan adalah 2 kali jumlah yang tertera pada tabel di bawah.

Kecuali dinyatakan lain, gunakan jumlah contoh yang akan diuji, seperti yang tertera pada tabel di bawah ini:



Jumlah wadah dalam lot	Jumlah bagian contoh
Kurang dari 100	4 contoh atau 10% diambil yang lebih besar
Tidak kurang dari 100 dan tidak lebih dari 500	10 contoh
Lebih dari 500	20 contoh atau 2% diambil yang kecil

### Sediaan uji

Dibuat menggunakan zat uji sejumlah seperti yang tertera pada tabel di bawah ini atau residu pada membran penyaring 0,45 µm yang diperoleh sebagai berikut: Untuk zat uji berupa larutan atau cairan lebih besar dari 10 ml atau antibiotik lebih dahulu menggunakan pelarut steril yang sesuai. Untuk larutan atau suspensi minyak, kocok lebih dahulu dengan pelarut yang sesuai, saring melalui membran penyaring.

Tabel jumlah zat uji yang diperlukan

Jumlah zat uji dalam wadah	Jumlah zat yang diperlukan untuk uji	
	kuman	jamur dan ragi
<i>Cairan</i>		
kurang dari 1 ml	Semua isi	Semua isi
tidak kurang dari 1 ml tidak kurang dari 4 ml	Setengah isi	Setengah isi
tidak kurang dari 4 ml tidak kurang dari 20 ml	2 ml	2 ml
lebih dari 20 ml	10% dari isi	10% dari isi
<i>Padat</i>		
kurang dari 50 mg	Semua isi	Semua isi
tidak kurang dari 40 mg tidak lebih dari 200 mg	Setengah isi	Setengah isi
lebih dari 200 mg	100 mg	100 mg

### Medium tioglikolat (TGC)

Gunakan medium tioglikolat yang tersedia secara komersial atau medium lain yang sesuai.

### Medium soybean casein digest (SCD) dan sabouraud dextrose agar (SDA)

Gunakan medium SCD dan SDA yang tersedia secara komersial atau medium lain yang sesuai.

### Kuman indikator

Untuk kuman aerob digunakan biakan *bacillus subtilis* atau *clostridium sporogenes*. Untuk jamur dan ragi digunakan biakan *candida albicans*.

### Uji fertilitas medium

Siapkan 4 tabung medium tioglikolat; Pada 2 tabung inokulasikan 0,1 ml suspensi kuman *B. subtilis* (1000 spora /ml). Pada 2 tabung yang lain inokulasikan 0,1 ml suspensi biakan *bacteroides vulgatus* (1000 kuman/ml), Inkubasi pada suhu 30°–32°C selama tidak kurang dari 7 hari. Siapkan 2 tabung medium SCD,

inokulasikan 0,1 ml suspensi biakan *candida albicans* (1000 sel/ml), Inkubasi pada suhu 22°–25°C selama tidak kurang dari 7 hari. Medium dikatakan memenuhi syarat uji fertilitas, jika mikroba dapat tumbuh.

### Uji efektivitas medium

Lakukan seperti cara yang tertera pada uji fertilitas medium menggunakan medium yang telah ditambahkan dalam sediaan uji. Medium dikatakan memenuhi syarat uji efektivitas medium jika pertumbuhan mikroba sama seperti pertumbuhan pada uji fertilitas.

### Prosedur

Siapkan 2 tabung medium tioglikolat, pada masing-masing tabung tambah sediaan uji dengan volume seperti pada tabel di atas. Inkubasi pada suhu 30°–32°C selama tidak kurang dari 7 hari. Siapkan 2 tabung medium SCD dan SDA, pada masing-masing tabung tambah sediaan uji dengan volume seperti pada tabel di atas. Inkubasi pada suhu 22°–25°C selama 4 hari untuk SDA dan tidak kurang dari 7 hari untuk SCD.

### Penafsiran hasil

Zat uji dinyatakan memenuhi syarat sterilitas, jika pada masing-masing tabung tidak terdapat pertumbuhan mikroba. Jika terjadi keraguan, tabung yang diragukan dibiakkan kembali menggunakan medium baru dan inkubasi selama waktu yang sama. Jika terjadi pertumbuhan yang sama seperti pada pengujian pertama, maka zat uji dinyatakan tidak memenuhi syarat.

## Uji Pirogenitas

Pengujian dilakukan dengan mengukur peningkatan suhu badan kelinci yang disebabkan penyuntikan intravena sediaan uji.

### Hewan percobaan

Hewan percobaan digunakan kelinci yang selama seminggu sebelum pengujian tidak menunjukkan penurunan berat badan.

Kelinci tidak dapat digunakan uji pirogenitas jika:

- Tiga hari sebelumnya telah digunakan untuk pengujian pirogenitas dan memberikan hasil negatif.
- Tiga minggu sebelumnya telah digunakan untuk pengujian pirogenitas, sediaan uji tidak memenuhi syarat.
- Telah digunakan kapan saja untuk pengujian pirogenitas dan respon rata rata kelompok kelinci melebihi 1,2°C

### Peralatan

Termometer. Digunakan termometer atau termometer listrik dengan ketelitian skala 0,1°C dan dapat dimasukkan ke dalam rektum kelinci sedalam 5 cm.

Injektor. Bahan dari gelas atau bahan lain yang sesuai yang tahan pemanasan pada suhu 250°C

**Sediaan uji**

Larutkan dan encerkan zat uji dengan larutan natrium klorida steril bebas pirogen atau jika zat uji berupa larutan yang sesuai dapat langsung digunakan.

**Prosedur**

- Satu jam sebelum pengujian, masukkan kelinci ke dalam kotak kelinci sampai kelinci tertahan dengan letak leher yang longgar, badannya bebas sampai kelinci dapat duduk dengan bebas.
- Uji pendahuluan 1—3 hari sebelum pengujian, injek intravena 10 ml/kg berat badan dengan larutan natrium klorida steril bebas pirogen.
- Perbedaan suhu ruangan terhadap suhu pemeliharaan tidak boleh lebih dari 3°C.
- Selama semalam sampai pengujian selesai, kelinci tidak boleh diberikan makan dan minum. Catat suhu badan kelinci dengan interval tidak lebih dari 30 menit dimulai 90 menit sebelum injeksi sampai 3 jam sesudah injeksi.
- Kelinci yang menunjukkan suhu lebih besar dari 0,6°C tidak dapat digunakan untuk pengujian.
- Lakukan pengujian menggunakan hewan percobaan terdiri dari 3 ekor kelinci. Hangatkan sediaan uji sampai suhu lebih kurang 38,5°C. Pada masing-masing kelinci, injek perlahan lahan ke dalam vena auricularis.
- Kecuali dinyatakan lain, waktu injeksi tidak lebih dari 4 menit dan volume sediaan uji tidak kurang dari 0,5 ml dan tidak lebih dari 10 ml/kg berat badan.
- Jika pengujian gagal, ulangi pengujian sampai 4 kali, tiap kali menggunakan hewan percobaan yang terdiri dari 3 ekor kelinci.

**Penafsiran hasil**

- Suhu awal pada masing-masing kelinci adalah suhu rata rata dengan interval 30 menit dan dilakukan 40 menit sebelum injeksi sediaan uji.
- Suhu maksimum adalah suhu tertinggi yang dicatat selama 3 jam setelah injeksi sediaan uji. Catat suhu badan kelinci dengan interval tidak lebih dari 30 menit dimulai 90 menit sebelum injeksi sampai 3 jam setelah injeksi sediaan uji.
- Selisih antara suhu awal dan suhu maksimum tiap kelinci dinyatakan sebagai suhu respon.
- Jika suhu respon negatif, dianggap nol.
- Kelinci dinyatakan memenuhi syarat jika perbedaan suhu awal antara kelinci yang satu dengan yang lain tidak lebih dari 1°C

- Kelinci dinyatakan tidak memenuhi syarat jika, perbedaan suhu awal antar kelinci lebih besar dari 0,2°C dan atau suhu awal lebih kecil dari 38,0°C dan tidak lebih besar dari 39,8°C.
- Sediaan uji dinyatakan memenuhi syarat jika jumlah respon tidak melebihi kolom 2 dan dinyatakan tidak memenuhi syarat, jika jumlah respon melebihi kolom 3 untuk tiap kelompok.
- Jika jumlah respon terletak antara kolom 2 dan kolom 3, ulangi pengujian.
- Jika jumlah respon pengujian keempat melebihi 6,60°C sediaan uji dinyatakan tidak memenuhi syarat.

Kelinci	Sediaan uji memenuhi syarat jika jumlah respon tidak melebihi	Sediaan uji tidak memenuhi syarat jika jumlah respon melebihi
3	1,20°C	2,70°C
6	2,80°C	4,30°C
9	4,50°C	6,0°C
12	6,60°C	6,60°C

**Uji Toksisitas Abnormal**

**Sediaan uji**

Larutkan dan encerkan zat uji seperti yang tertera pada monografi dengan air atau larutan natrium klorida atau jika zat uji berupa larutan yang sesuai dapat langsung digunakan.

**Prosedur**

Pada 5 ekor mencit, injek secara intravena masing-masing 0,5 ml sediaan uji. Kecuali dinyatakan lain, lamanya injeksi tidak kurang dari 15 detik dan tidak lebih dari 30 detik.

Sediaan uji dinyatakan memenuhi syarat, kecuali dinyatakan lain, jika tidak ada seekor mencit yang mati dalam waktu 24 jam. Jika ada seekor mencit mati dalam waktu 24 jam, ulangi pengujian.

**Uji Batas Mikroba**

Uji batas mikroba dilakukan untuk menetapkan banyaknya mikroba aerob hidup yang terdapat dalam zat atau untuk menyatakan zat bebas cemaran mikroba tertentu.

Tabel 5. Medium yang dipergunakan dalam uji batas mikroba

Medium No.	pH	Komposisi	Jumlah (g/l)
A.	7,3 ± 0,1	Kasein digest (tripsin)	15,0 g
		Soybean digest (papain)	5,0 g
		Natrium klorida	5,0 g
		Agar	15,0 g
B.	7,3 ± 0,1	Kasein digest (tripsin)	17,0 g
		Soybean digest (papain)	3,0 g
		Natrium klorida	5,0 g
		Kalium fosfat	2,5 g
		Glukosa	2,5 g
C.	7,2 ± 0,1	Kasein digest (tripsin)	10,0 g
		Sari ragi	5,0 g
		Manito	10,0 g
		Kalium fosfat	5,0 g
		Litium klorida	5,0 g
		Asam aminoasetat	10,0 g
		Merah fenol	25,0 mg
		Agar	15,0 g
D.	7,2 ± 0,1	Gelatin digest (tripsin)	20,0 g
		Magnesium klorida	1,4 g
		Kalium sulfat	10,0 g
		Setrimid	0,3 g
		Gliserol	10,0 g
		Agar	13,6 g
E.	6,9 ± 0,1	Sari daging	3,0 g
		Gelatin digest (tripsin)	5,0 g
		Laktos	5,0 g
F.	7,0 ± 0,1	Kasein digest (tripsin)	5,0 g
		Laktos	4,0 g
		Natrium fosfat	10,0 g
		Asam natrium selenit	4,0 g
		Sistina	1,0 g
G.		Kasein digest (tripsin)	2,5 g
		Pepsina	2,5 g
		Garam empedu	1,0 g
		Kalsium karbonat	10,0 g
		Natrium tiosulfat	30,0 g
		Kalium iodida*	5 g
		Iodium*	6 g
		Hijau berlian (0,1% b/v)*	10,0 ml
H.	6,9 ± 0,1	Sari ragi	3,0 g
		Pepsina	5,0 g
		Kasein digest (tripsin)	5,0 g
		Laktos	10,0 g
		Natrium klorida	5,0 g
		Glukosa	10,0 g
		Merah fenol	80,0 mg
		Hijau berlian	12,5 mg
		Agar	15,0 g

Tabel 5. Medium yang dipergunakan dalam uji batas mikroba (lanjutan)

Medium No.	pH	Komposisi	Jumlah (g/l)
I.	7,4 ± 0,1	Xilosa	3,5 g
		Lisina	5,0 g
		Laktos	7,5 g
		Glukosa	7,5 g
		Natrium klorida	5,0 g
		Sari ragi	3,0 g
		Merah fenol	80,0 mg
		Natrium desoksikolat	2,5 g
		Natrium tiosulfit	6,8 g
		Besi (II) amonium sitrat	800,0 mg
		Agar	13,5 g
K.	7,6 ± 0,1	Sari daging	5,0 g
		Kasein digest (tripsin)	5,0 g
		Pepsin	5,0 g
		Glukosa	5,0 g
		Natrium fosfat	4,0 g
		Besi (II) sulfat	300,0 mg
		Indikator bismut sulfit	8,0 mg
		Hijau berlian	25,0 mg
		Agar	15,0 g
L.	7,3 ± 0,1	Kasein digest (tripsin)	10,0 g
		Pepsin	10,0 g
		Laktos	10,0 g
		Glukosa	11,0 g
		Besi (II) sulfat	200 mg
		Natrium klorida	5,0 g
		Natrium tiosulfat	200,0 mg
		Merah fenol	25,0 mg
		Agar	13,0 g
M.	7,1 ± 0,1	Gelatin digest (tripsin)	17,0 g
		Kasein digest (tripsin)	1,5 g
		Pepsin	1,5 g
		Laktos	10,0 g
		Garam empedu	1,5 g
		Natrium klorida	5,0 g
		Merah netral	30,0 mg
		Kristal violet	1,0 mg
		Agar	13,5 g
N.		Pepton	10,0 g
		Kalium fosfat	2,0 g
		Laktos (20 % b/v)	10,0 g
		Eosin (2 % b/v)	400,0 mg
		Biru metilen (0,333 % b/v)	67,0 mg
		Agar	15,0 g

\*) Ditambahkan saat medium akan digunakan

**Dapar fosfat (pH 7,2)**

Larutkan 34 g kalium dihidrogen fosfat dalam 500 ml air di dalam labu 1000 ml; tambah 175 ml natrium hidroksida 1 M sampai pH  $7,2 \pm 0,1$ . Tambah air sampai batas volume 1000 ml, simpan dalam lemari pendingin pada suhu  $2^{\circ}$ – $8^{\circ}$ C. Sebelum digunakan, encerkan 1 volume larutan dengan 800 volume air, sterilkan pada suhu  $121^{\circ}$ C, selama 15 menit.

**Sediaan uji**

- Dari setiap sediaan uji, pada masing-masing 1 ml atau 1 g dari tidak kurang dari 10 kemasan sediaan atau tidak lebih dari 10 wadah bahan standar, sampai sediaan uji adalah 10 ml atau 10 g.
- Pengerjaan selanjutnya terhadap contoh harus disesuaikan dengan sifat-sifat fisika sediaan uji, dan tidak merubah jumlah dan jenis mikroba, sampai diperoleh larutan atau suspensi dalam bentuk yang sesuai untuk penetapan. Jika sediaan uji berupa larutan atau suspensi dalam air atau dalam campuran air dengan etanol dengan kadar etanol kurang dari 30%, dan jika berupa zat padat yang mudah larut atau larut sempurna dalam 90 ml dapar fosfat pH 7,2 atau dalam medium yang tertera, lakukan pengujian selanjutnya seperti yang tertera perhitungan banyaknya mikroba aerob dan pengujian bebas mikroba yang tertera pada prosedur pengujian.
- Jika sediaan uji adalah zat padat yang tidak larut sempurna, gerus sampai halus dan suspensikan dalam zat pensuspensi yang tertera, dan lakukan pengujian selanjutnya seperti yang tertera perhitungan banyaknya mikroba aerob dan pengujian bebas mikroba yang tertera pada prosedur pengujian.
- Jika sediaan atau zat uji tidak dapat bercampur dengan air (misalnya cairan salep, krim, malam), buat suspensi dengan pertolongan sedikit zat pensuspensi steril yang sesuai (misalnya polisorbit), aduk secara mekanik, jika perlu hangatkan sampai suhu tidak lebih dari  $40^{\circ}$ C, dan lakukan pengujian selanjutnya seperti yang tertera perhitungan banyaknya mikroba aerob dan pengujian bebas mikroba yang tertera pada prosedur pengujian.
- Jika sediaan uji mengandung zat antimikroba yang dapat larut, buat larutan dalam pelarut steril yang sesuai, saring secara aseptik melalui membran steril penyaring bakteri, gunakan membran untuk pengujian selanjutnya
- Jika zat uji adalah gelatin berbentuk butiran, tambah 1 g ke dalam 99 ml air untuk injeksi bersuhu antara  $8^{\circ}$ – $10^{\circ}$ C dalam wadah sesuai, kocok, sampai gelatin merata, biarkan selama 1 jam pada suhu antara  $8^{\circ}$ – $10^{\circ}$ C. Panaskan dalam penangas air pada suhu  $45^{\circ}$ C  $\pm 1^{\circ}$  selama 30 menit atau lebih sampai gelatin larut sempurna. Kocok dengan kuat selama melarutkan agar gelatin larut sempurna dan mikroba terbagi rata, dan lakukan selanjutnya seperti yang tertera perhitungan banyaknya mikroba aerob dan pengujian bebas mikroba yang

tertera pada prosedur pengujian.

- Jika zat uji adalah gelatin berbentuk lembaran, potong dengan gunting steril sampai diperoleh potongan berdiameter tidak lebih dari 2,5 cm. Lanjutkan pengujian seperti yang tertera pada gelatin berbentuk butiran, mulai dengan “tambahkan dengan menggunakan 10 g zat dan 990 ml air untuk injeksi dan biarkan campuran selama 4 jam”.

**Prosedur pengujian****Perhitungan banyaknya mikroba aerob**

Timbang 10 g zat uji atau 10 ml cairan uji, masukkan ke dalam labu 100 ml, tambah dapar fosfat pH 7,2 sampai batas volume 100 ml, aduk. Jika campuran yang diperoleh berupa larutan atau cairan bening, lanjutkan pengujian dengan prosedur tabung. Untuk gelatin, lakukan seperti nomor 2.

**Cara lempeng**

Jika perlu lanjutkan pengenceran sampai 1 ml diharapkan menghasilkan antara 30 dan 300 koloni. Pipet 1 ml ke dalam masing-masing 2 cawan petri steril, segera tambah masing-masing 15–20 ml medium A, yang sebelumnya telah dicairkan dan dibiarkan sampai suhu  $45^{\circ}$ C. Tutup masing-masing cawan, campur dengan memiringkan atau memutar cawan, biarkan membeku pada suhu kamar. Balikkan cawan, inkubasi pada suhu antara  $30^{\circ}$ – $35^{\circ}$ C selama 48–72 jam. Jika terdapat pertumbuhan, hitung banyaknya koloni masing-masing cawan, dengan menggunakan alat yang sesuai dan tetapkan jumlah rata-rata mikroba/g/ ml sediaan uji.

**Prosedur tabung**

Masukkan 9,0 ml medium B ke dalam masing-masing 14 tabung, ukuran 20 x 150 mm. Bagi tabung dalam 4 kelompok, kelompok pertama dan kedua masing-masing terdiri dari 4 tabung, kelompok ketiga dan keempat masing-masing terdiri dari 3 tabung. Pipet 1 ml larutan atau zat uji ke dalam masing-masing tabung kelompok pertama, aduk, sisihkan 1 tabung sampai kelompok pertama tinggal 3 tabung. Pipet 1 ml, dari tabung yang disisihkan ke dalam masing-masing tabung kelompok kedua, aduk, buang tabung yang sudah disisihkan. Sisihkan 1 tabung sampai kelompok kedua tinggal 3 tabung. Pipet 1 ml dari tabung yang disisihkan ke dalam masing-masing tabung kelompok ketiga, aduk, buang tabung yang sudah disisihkan. Kelompok pertama mengandung 100 mg atau 0,1 ml sediaan uji, kelompok kedua 10 mg atau 0,01 ml, kelompok ketiga 1 ml atau 0,001 ml dan kelompok keempat digunakan sebagai blanko. Inkubasi pada suhu antara  $30^{\circ}$ – $50^{\circ}$ C selama 24–48 jam. Amati adanya pertumbuhan pada masing-masing tabung tiap kelompok; pada tabung blanko tidak terdapat pertumbuhan. Dengan menggunakan tabel dibawah ini, dapat dihitung jumlah bilangan dugaan terdekat mikroba tiap g atau tiap ml sediaan uji.

Jika zat uji adalah gelatin, pipet 1 ml sediaan uji yang dikocok ke dalam masing-masing 2 cawan petri, ukuran 15 mm x 100 mm, tambah segera 10 ml medium A

yang telah dicairkan dan dibiarkan sampai suhu 45°C. Sumbat cawan, campur dengan memiringkan atau memutar cawan. Bekukan secepat mungkin, balikan cawan dan inkubasi pada suhu antara 30°—35°C selama 48 jam. Jika terdapat pertumbuhan, hitung jumlah koloni masing-masing cawan dengan menggunakan alat yang sesuai, dan tetapkan jumlah rata-rata mikroba tiap zat uji.

## Uji Bebas Mikroba

### *Staphylococcus* dan *pseudomonas*

Uji bebas *staphylococcus* dan *pseudomonas* pada sediaan uji, tambah medium B sampai batas volume 100 ml, aduk dan inkubasi pada suhu antara 30°—35°C selama 24—48 jam. Jika terdapat pertumbuhan, pindahkan dengan menggunakan ose dari biakan ke masing-masing medium C dan medium D. Tutup dan balikkan cawan, inkubasi pada suhu antara 30°—35°C selama 24—48 jam.

Sediaan uji dinyatakan bebas *staphylococcus* dan *pseudomonas*, jika tiap cawan tidak mengandung koloni yang menunjukkan tanda seperti yang tertera pada tabel di bawah.

- Jika koloni menunjukkan tanda seperti yang tertera pada tabel, lanjutkan pengujian dengan cara sebagai berikut:
- Uji koagulasi (untuk *staphylococcus aureus*). Pindahkan koloni dari medium C ke dalam tabung yang mengandung 0,5 ml plasma hewan menyusui. Inkubasi tabung dalam penangas air pada suhu 37°C selama 24 jam sambil amati setiap 3 jam, dan kemudian setiap jangka waktu yang sesuai. Sediaan uji dinyatakan bebas *staphylococcus aureus*, jika tidak terjadi koagulasi.
- Uji oksidasi (untuk *pseudomonas aeruginosa*). Jika pada medium D diketemukan koloni bakteri berbentuk batang gram negatif, letakkan potongan kertas saring yang telah diimpregnasikan dengan dimetilfenilendiamina dihidroklorida di atas masing-masing koloni yang bersangkutan. Sediaan uji dinyatakan bebas *pseudomonas aeruginosa*, jika pada potongan kertas tidak terbentuk warna merah muda yang berubah menjadi violet.

### *Salmonella* dan *escherichia coli*

Pada sediaan uji di dalam wadah yang sesuai, tambah medium E sampai batas volume 100 ml, inkubasi pada suhu antara 30°—35°C selama 24—48 jam. Jika terdapat pertumbuhan, aduk dengan hati-hati.

Pindahkan masing-masing 1 ml ke dalam dua wadah yang masing-masing mengandung 10 ml medium F dan 1 ml medium G, aduk dan inkubasi pada suhu 30°—35°C selama 12—24 jam, simpan residu medium E yang telah diinkubasi. Lanjutkan pengujian sebagai berikut:

Uji bebas *salmonella*. Pindahkan dari masing-masing medium F dan medium G ke atas masing-masing permukaan medium H, medium I dan medium K di dalam masing-masing cawan petri. Tutup dan balikkan cawan, inkubasi pada suhu 30°—35°C selama 24—48 jam.

Sediaan uji dinyatakan bebas *salmonella*, jika koloni yang terdapat di dalam masing-masing medium tidak menunjukkan tanda seperti yang tertera pada tabel di bawah. Jika terdapat koloni seperti yang tertera pada tabel, lanjutkan uji identifikasi dengan memindahkan tiap koloni tersebut pada masing-masing agar miring medium L; pemindahan dilakukan dengan menggunakan ose, mula-mula dioleskan di atas permukaan agar, kemudian ose ditusukkan ke dalam agar. Inkubasi pada suhu 30°—35°C selama 24—48 jam.

Sediaan uji dinyatakan bebas dari *salmonella*, jika tidak terjadi pembentukan asam (diketahui dengan adanya perubahan warna) dan atau pembentukan gelembung gas (disertai atau tanpa perwarnaan gelap) di bawah permukaan, dan tidak terjadi perubahan warna dari merah ke kuning pada permukaan medium. Uji bebas *escherichia coli*. Pindahkan residu medium E yang diinkubasi ke atas permukaan medium M dalam cawan petri. Tutup dan balikkan cawan, inkubasi pada suhu 30°—35°C selama 24—48 jam.

Sediaan uji dinyatakan bebas *escherichia coli*, jika tidak terdapat koloni yang menunjukkan tanda seperti yang tertera pada tabel di bawah. Jika terdapat koloni seperti yang tertera pada tabel, lanjutkan uji identifikasi dengan memindahkan tiap koloni tersebut ke atas permukaan medium N dalam cawan petri; pemindahan dilakukan menggunakan ose. Jika terdapat banyak koloni yang harus dipindahkan, bagi tiap permukaan cawan dalam 4 bagian, dan tiap bagian dapat diinokulasi dengan bahan yang berasal dari koloni yang terpisah. Tutup dan balikkan cawan, inkubasi pada suhu 30°—35°C selama 24—48 jam. Pengujian dinyatakan bebas *escherichia coli*, jika tidak terdapat koloni yang menunjukkan kilap logam pada cahaya pantul dan warna hitam biru pada cahaya langsung. Jika pengujian menunjukkan hasil yang meragukan, ulangi pengujian menggunakan 25 g sediaan uji.

Tabel 6. Jumlah bilangan dugaan mikroba.

Kombinasi tabung setiap kelompok yang menunjukkan adanya pertumbuhan			
Jumlah sediaan yang diperiksa dalam mg atau ml setiap tabung			Jumlah bilangan dudan terdekat mikroba setiap g atau ml
100 mg (0,1 ml)	10 mg (0,01 ml)	1 mg (0,001 ml)	
3	3	3	lebih dari 1100
3	3	2	1100
3	3	1	460
3	3	0	240
3	2	3	290
3	2	2	210
3	2	1	150
3	2	0	93
3	1	3	160
3	1	2	120
3	1	1	75
3	1	0	43
3	0	3	95
3	0	2	64
3	0	1	39
3	0	0	23

Tabel 7. Sifat morfologis mikroba.

Mikroba	Medium	Sifat morfologi koloni	Pewarnaan Gram
Staphylococcus aureus	C	Berwarna hitam, dikelilingi daerah berwarna kuning	Bentuk bulan dalam rangkaian tanda gram positif.
Pseudomonas aeruginosa	D	Umumnya berwarna agak kehijauan, berfluorosensi	Bentuk batang langsing yang gram negatif
Escherichia coli	M	Berwarna merah bata, mungkin dikelilingi endapan empedu	Bentuk batang agak membulat yang gram negatif
Salmonella	H	Kecil, transparan, tidak berwarna atau merah jambu sampai putih buram; sering dikelilingi daerah berwarna merah muda sampai merah	
	I	Berwarna merah. dengan atau tanpa pusat yang berwarna hitam	
	K	Berwarna hitam atau Hijau	





## INDEX



<b>A</b>			
<i>Acepromazine maleate</i>		61	
Air		4	
Air murni		29	
dalam bulk		29	
dalam wadah		29	
penetapan kadar		508	
penetapan susut pengeringan		508	
titrasi bebas air		508	
untuk injeksi		30	
dalam bulk		30	
steril		31	
Albendazol		31–32	
serbuk oral		32	
suspensi oral		32	
<i>Albendazole</i>		31	
Alfadolon		34	
Alfadolon asetat		33–34	
<i>Alfadolone acetate</i>		33	
Alfaksalon		33–34	
<i>Alfaxalone</i>		33	
Amitraz		34–37	
pekat cair		35–36	
pekat serbuk		36	
pour-on		36	
Amoksisilin		37–41, 50–51, 506–507	
minyak injeksi		39, 41, 51	
tablet		40	
Amoksisilin trihidrat		37–41, 44, 47, 50–52	
serbuk oral		40	
<i>Amoxycillin trihydrate</i>		37	
<i>Ampicillin</i>		41	
<i>Ampicillin sodium</i>		43	
<i>Ampicillin trihydrate</i>		47	
Ampisilin		41–42, 44–46, 48–52	
minyak injeksi		50, 52	
Ampisilin natrium		43, 45–47	
infus intramamari		46, 50	
injeksi		47	
Ampisilin trihidrat		37, 39–40, 43, 47, 49–52	
infus intramamari		49	
injeksi		50	
kapsul		51	
serbuk oral		51	
tablet		52	
Amprolium			
serbuk oral		53	
Amprolium hidroklorida		52–53	
<i>Amprolium hydrochloride</i>		52	
Apramisin		54–56, 506–507	
injeksi		55–56	
serbuk oral		56	
Apramisin sulfat		54–56	
<i>Apramycin sulphate</i>		54	
<i>Arginine hydrochloride</i>		361	
Arginin hidroklorida		361	
Asam aspartat		238, 362, 377	
Asam borat		40, 57, 370–371, 509	
Asam folat		363	
Asam meklofenamat		57–58	
granul		58	
Asam nikotinat		364, 509, 526	
Asam oksolinat		58–59	
Asam salisilat		60, 404, 469, 510	
Asepromazin		61–62	
injeksi		61, 123–124	
tablet		62	
Asepromazin maleat		61–62, 123–124	
<i>Aspartic acid</i>		362	
Atropin		158	
<i>Atropine sulphate</i>		63	
Atropin sulfat		63–64, 158	
injeksi		63–64	
tetes mata		63	
Azaperon		64–66	
injeksi		65	
<i>Azaperone</i>		64	
<b>B</b>			
<i>Bacitracin</i>		66	
<i>Bacitracin zinc</i>		68	
Bahan baku resmi		3	
Basitrasin		66–69, 506–507	
serbuk oral		69	
Basitrasin seng		66–69	
<i>Benzalkonium chloride</i>		70	
Benzalkonium klorida		70, 247, 258	
larutan		70	
Benzilpenisilin		72, 74–76, 270–272, 514, 517	
injeksi		75	
Benzilpenisilin kalium		71–72, 75–76, 273	
Benzilpenisilin natrium		72–76	
<i>Benzylpenicilin sodium</i>		73	
<i>Benzylpenicillin potassium</i>		71	
Besi dekstran		365	
injeksi		365, 523	
Biotin		366	
<i>Boric acid</i>		57	
Bromheksin		76	
Bromheksin hidroklorida		76	
<i>Bromhexine hydrochloride</i>		76	
Butilhidroksianisol		77	
Butil hidroksibenzoat		78	
Butilhidroksitoluen		79, 391, 399	
<i>Butylhydroxyanisole</i>		77	
<i>Butylhydroxytoluene</i>		79	
<i>Butyl parahydroxybenzoate</i>		78	
<b>C</b>			
<i>Calcium borogluconate</i>		370	



Enramisin hidroklorida	111	Fenilbutazon	129–131
<i>Enramycin hydrochloride</i>	111	tablet	130
Enrofloksasin	111–112	Fenobarbital natrium	131–133
injeksi	112	injeksi	132
larutan oral	112	tablet	133
<i>Enrofloxacin</i>	111	Fenoksimetilpenisilin	273, 275
Enzim		Fenoksimetilpenisilin kalium	71, 73, 75, 273, 275
pektinase	499–500	tablet	275
penetapan aktivitas	496	Fenol	133–134
protease	497	cair	134
pululanase	501	<i>Fenthion</i>	134
selulase	498	Fention	134–135
$\alpha$ -amilase	496	Fitonadion	411–413, 421–422, 425,
$\beta$ -amilase	496–497		429–430, 439–440, 443–444,
$\beta$ -glukanase	500		454, 458–459, 473–475
<i>Ergocalciferol</i>	398	Fluanison	135
Ergokalsiferol	398–399, 411–413, 421–422,	<i>Fluanisone</i>	135
	425, 427–428, 439–443,	Flubendazol	136–137
	454–457, 473–474	suspensi oral	137
Eritromisin	113–115, 301, 506–507	<i>Flubendazole</i>	136
serbuk oral	115	Flukloksasilin	95, 176, 178
tablet	115	Flukloksasilin natrium	94–95, 176–177
<i>Erythromycin</i>	113	Flumekuoin	137–138
Estradiol	21, 116, 120	<i>Flumequine</i>	137
Estradiol benzoat	115–117	Fluniksin	139
injeksi	116	Fluniksin meglumin	138
<i>Estradiol benzoate</i>	115	<i>Flunixin meglumine</i>	138
Etamifilin	118–119	Fluorometri	444, 480
injeksi	118	Fotometri nyala	480
serbuk oral	119	Fluprostenol	140
tablet	119	Fluprostenol natrium	139–140
Etamifilin kamsilat	118–119	injeksi	140
<i>Etamiphylline camsylate</i>	118	<i>Fluprostenol sodium</i>	139
<i>Ethinylestradiol</i>	119	<i>Folic acid</i>	363
<i>Ethopabate</i>	122	<i>Formaldehyde solution</i>	140
<i>Ethoxyquin</i>	121	Formalin	140, 188
Etinilestradiol	119–121	Fosfomisin	144, 506–507
tablet	121	Fosfomisin kalsium	141
Etoksikuin	121	Fosfomisin natrium	142
Etopabat	53, 122	Fosfomisin trometamol	143–144
serbuk oral	53	<i>Fosfomycin calcium</i>	141
Etorfin	124–125	<i>Fosfomycin sodium</i>	142
injeksi	123–125	<i>Fosfomycin trometamol</i>	143
Etorfin hidroklorida	123–125	Framisetin sulfat	145, 216
<i>Etorphine hydrochloride</i>	123	<i>Framycetin sulphate</i>	145
<b>F</b>			
Febantel	125	Furaltadon	146
Fenbendazol	126–128, 229–230	<i>Furaltadone</i>	146
granul	127–128	Furazolidon	147
pasta	128	serbuk oral	147
serbuk oral	128	<i>Furazolidone</i>	147
suspensi oral	128	<b>G</b>	
<i>Fenbendazole</i>	126	<i>Gentamicin sulphate</i>	148
Fenilalanin	189–190, 192, 367–368,	Gentamisin	148–150, 506–507
	385, 390	injeksi	149

Gentamisin sulfat	148–150	Kalsium pantotenat	372–373
Glutaraldehid	150–151	Kalsium tembaga edetat	373–374
larutan	151	injeksi	374
larutan pekat	150–151	Kanamisin	91–92, 165, 305, 506–507
Gonadotrofin	289	Kanamisin sulfat	164–165
korionik	290	<i>Kanamycin sulphate</i>	164
injeksi	290	Kaolin	165–166, 524
serum	289–290	suspensi oral	166
injeksi	289	Kapsul	17
<i>Gonadotrophin equine serum</i>	289	cangkang keras	17
Griseofulvin	151–153	cangkang lunak	18
serbuk oral	152	gelatin keras	17
<b>H</b>			
Heksaklorofen	153	Karbaril	167
Herbal	11–13	Katecu	167
obat herbal	4, 6, 9–10, 12–13, 18–22, 24	tingtur	168
teh herbal	19	Kelarutan	3
<i>Hexachlorophene</i>	153	Ketamin	168–169
Hidrat aluminium magnesium silikat	153	injeksi	169
Hidrokortison	154–156, 260–264, 266	<i>Ketamine hydrochloride</i>	168
<i>Histidine hydrochloride</i>	368	Ketamin hidroklorida	168–169
Histidin hidroklorida	368–369	Klazuril	170
Homatropin	64, 157–158	Klindamisin	172–174, 506–507
tetes mata	158	injeksi	172–173
<i>Homatropine hydrobromide</i>	157	kapsul	173
Homatropin hidrobromida	64, 157–158	serbuk oral	174
<i>Hydrate aluminium magnesium silicate</i>	153	Klindamisin hidroklorida	171, 173–174, 199–200
<i>Hydrocortisone</i>	154	Kloksasilin	46–47, 49, 95, 175–178, 506–507, 517
<b>I</b>			
Infus intramamari	14	Kloksasilin benzatin	49–50, 174–175
<i>Iodine</i>	158	infus intramamari	49, 175
Iodium	158–159	Kloksasilin natrium	46, 94–95, 175–177
larutan Lugol's	159	infus intramamari	46, 50, 177
tingtur larutan	159	Klopidol	178
<i>Iron dextran</i>	365	serbuk oral	178
<i>Isoleucine</i>	369	Kloprostenol	179–180
Isoleusin	238, 369, 374–375	injeksi	179
<i>Ivermectin</i>	160	Kloprostenol natrium	140, 179–180
Ivermektin	160, 162–163	Kloramfenikol	180–182
injeksi	162–163	injeksi	181–182
pasta	163	Kloramfenikol natrium suksinat	180–181
pour-on	163	Klorheksidin	183
<b>J</b>			
Josamisin	163–164, 506–507	Klorheksidin hidroklorida	182–183
<i>Josamycin</i>	163	Klorokresol	183–184
<b>K</b>			
Kalium selenat	383	Klortetrasiklin	185, 506–507
Kalsium boroglukonat	370	kapsul	185
injeksi	370	serbuk oral	186
Kalsium glukonat	370–371	tablet	186
		Klortetrasiklin hidroklorida	184–187
		Klosantel	187–188
		Klosantel natrium dihidrat	187
		Kolekalsiferol	397, 399, 411–413, 421–422, 425, 427–428, 439–442, 454–456, 473–474
		Kolistimetat	
		injeksi	189
		Kolistimetat natrium	188–189

Kolistin	188–192, 506–507	<i>Menadione sodium bisulphite</i>	402
serbuk oral	192	Menadion natrium bisulfit	402
Kolistin sulfat	189–192	<i>Mepivacaine hydrochloride</i>	206
Kromatografi	483, 520	Mepivakain	206–207
cair	488–490	injeksi	207
gas	483, 486–490	Mepivakain hidroklorida	206–208
jerap	483	Metenamin	208
kertas	483, 485–486	<i>Methenamine</i>	208
menaik	485	<i>Methionine</i>	377
menurun	484–485	<i>Methyltestosterone</i>	209
lapis tipis	483, 485	Metiltestosteron	209–210
pembagian	483	tablet	210
<b>L</b>			
Larutan volumetrik	490	Metionin	377
<i>Leucine</i>	374	<i>Metronidazole</i>	210
Leusin	189–190, 192, 238, 374–375	Metronidazol	210–213
Levamisol	193–195	injeksi	211–212
injeksi	194	suspensi injeksi	212
larutan oral	194	tablet	212
serbuk oral	195	Mineral	
<i>Levamisole hydrochloride</i>	193	serbuk oral	403
Levamisol hidroklorida	193–196	Morantel	214
Levomepromazin	124–125, 196	Morantel hidrogen tartrat	213–214
injeksi	124–125	<i>Morantel hydrogen tartate</i>	213
<i>Levomepromazine</i>	196	<b>N</b>	
<i>Lidocaine hydrochloride</i>	196	Nandrolon	215–216
Lidokain		<i>Nandrolone laurate</i>	215
injeksi	197	Nandrolon laurat	215–216
Lidokain hidroklorida	196–197, 206, 208, 316–317	injeksi	215–216
<i>Lincomycin hydrochloride</i>	198	Natrium kalsium edetat	378–379
Lindan	198	infus	379
<i>Lindane</i>	198	Natrium klorida	379, 381
Linkomisin	172–174, 199–201, 506–507	infus intravena	381
injeksi	199–200	Natrium sitrat	380–381
serbuk oral	200	infus intravena	381
Linkomisin hidroklorida	171–173, 198–201	Neomisin	145, 216–218, 506–507
Lisin hidroklorida	361, 375–376, 382	Neomisin sulfat	91–92, 145, 165, 216–218, 305
<i>Lysine hydrochloride</i>	375	serbuk oral	217
<b>M</b>			
Magnesium aspartat dihidrat	376	<i>Neomycin sulphate</i>	216
<i>Magnesium aspartate dihydrate</i>	376	<i>Nicarbazin</i>	218
<i>Malathion</i>	201	<i>Niclosamide anhydrous</i>	219
Malation	201–202	<i>Niclosamide monohydrate</i>	220
<i>Meclofenamic acid</i>	57	<i>Nicotinamide</i>	381
Megestrol	203	<i>Nicotinic acid</i>	364
tablet	203	Nikarbazin	218–219
<i>Megestrol acetate</i>	202	serbuk oral	219
Megestrol asetat	202–204	Niklosamid	220–222
Meloksikam	204–206	serbuk oral	221
suspensi oral	205	tablet	222
<i>Meloxicam</i>	204	Niklosamid anhidrat	219, 222
Menadion	401–402	Niklosamid monohidrat	220, 222
<i>Menadione</i>	401	Nikotinamid	381
		Nistatin	223–224
		serbuk oral	224
		tablet	224

Nitroksinil	224–225	Pilokarpin	246–247
injeksi	225	tetes mata	247
<i>Nitroxinil</i>	224	Pilokarpin hidroklorida	245–247
Norfloksasin	225–226	Piperazin	247, 249, 251–252
larutan oral	226	kapsul	250
<i>Norfloxacina</i>	225	larutan oral	251
<i>Nystatin</i>	223	tablet	251
<b>O</b>			
Ofloksasin	227–228	Piperazin adipat	247–248, 250
larutan oral	228	<i>Piperazine adipate</i>	247
<i>Ofloxacin</i>	227	<i>Piperazine citrate</i>	250
Oksfendazol	228–230	<i>Piperazine hydrate</i>	249
serbuk oral	229	<i>Piperazine phosphate</i>	248
suspensi oral	229	Piperazin fosfat	248
Oksiklozanid	230–231	Piperazin hidrat	249, 251–252
suspensi oral	231	Piperazin sitrat	250, 251–252
Oksitetrasiklin	105, 107, 109, 232–237,	Piperonil butoksida	252, 255–256
infus intramamari	506–507	<i>Piperonyl butoxide</i>	252
injeksi	233	Pirantel	
kapsul	233–234	serbuk oral	253
serbuk oral	235	Pirantel pamoat	252–253
tablet	236	Piretrum	
Oksitetrasiklin hidroklorida	231, 233–237, 334, 336	bunga	253, 255–256
Oksitosin	237–239	ekstrak	255
injeksi	239	serbuk halus	255
Olakuindok	239–240	spray	255
serbuk oral	240	Piridoksin hidroklorida	394, 408–412, 415–421,
<i>Olaquinox</i>	239		424–425, 431–433, 436–440,
<i>Oxfendazole</i>	228		446–447, 450–454, 460, 462,
<i>Oxolinic acid</i>	58		464–467
<i>Oxyclozanide</i>	230	Pirimetamin	256, 321
<i>Oxytetracycline hydrochloride</i>	231	larutan oral	321
<i>Oxytocin</i>	237	Pisostigmin	
<b>P</b>			
Papaverin	241	tetes mata	258
injeksi	242	Pisostigmin sulfat	257–258
<i>Papaverine hydrochloride</i>	240	<i>Potassium selenate</i>	383
Papaverin hidroklorida	240, 242	<i>Povidone-iodine</i>	258
<i>Paracetamol</i>	242	Povidon iodium	258
Parasetamol	242–245	larutan	258
serbuk oral	244	Prazikuantel	259
tablet	244	<i>Praziquantel</i>	259
Pembakaran labu oksigen	494	Prednisolon	84–85, 155–156, 260–262,
Penetapan Hayati Antibiotik	501	injeksi	264–267, 496
Pereaksi	6, 508	tablet	264
<i>Phenobarbital sodium</i>	131	Prednisolon asetat	261–264
<i>Phenol</i>	133	<i>Prednisolone</i>	260
<i>Phenylalanine</i>	367	<i>Prednisolone acetate</i>	261
<i>Phenylbutazone</i>	129	<i>Prednisolone sodium phosphate</i>	263
<i>Physostigmine sulphate</i>	257	Prednisolon natrium fosfat	82, 263–265
<i>Pilocarpine hydrochloride</i>	245	Premiks	23
		<i>Procaine benzylpenicillin</i>	269
		Progesteron	267–269
		implan	268
		injeksi	269
		<i>Progesterone</i>	267
		Prokain	269–273, 514, 517



Prokain benzilpenisilin	269–272	infus	20
G	273	injeksi	20
infus intramamari	271	injeksi atau infus pekat	20
injeksi	272	serbuk untuk injeksi atau infus	20
Prolin	238, 369, 382, 386	resmi	3
<i>Proline</i>	382	semisolid	21
Prometazin	276–277	gel	22
injeksi	276	krim	22
tablet	277	pasta	22
Prometazin hidroklorida	275–277	salep	22
<i>Promethazine hydrochloride</i>	275	untuk irigasi	16
<i>Pyrantel pamoate</i>	252	untuk mata	25
<i>Pyrethrum flower</i>	253	semisolid	26
<i>Pyridoxine hydrochloride</i>	394	tetes mata	25
<i>Pyrimethamine</i>	256	untuk oral	9
		serbuk dan granul untuk larutan dan suspensi	9
		serbuk dan granul untuk sirup	10
		serbuk tetes oral	10
		sirup	10
		tetes oral	9
		Sefaleksin	280–282, 506–507
		kapsul	281–282
		suspensi oral	282
		Sefaleksin monohidrat	279–282
		Sefalonium	282–284
		infus intramamari	283
		salep mata	284
		Sefalotin	283, 285–286
		Sefalotin natrium	283, 285
		Sefapirin	286
		Sefapirin natrium	286
		Sefoperazon	288, 506–507
		Sefoperazon natrium	287
		Selenit natrium	383
		Serbuk	
		effervesen	23
		oral	22
		Setilpiridinium klorida	247, 258, 290–291
		larutan	291
		Setrimid	182, 291–292, 514, 531
		larutan	292
		Sianokobalamin	395–396, 408, 411–413, 416–421, 423, 425, 432–433, 439–440, 447, 454, 461
		Silazin	293
		Silazin hidroklorida	292
		<i>Simeticone</i>	293
		Simetikon	293–294
		Simplisia nabati	3–4
		Siprofloksasin	294–298
		larutan oral	297–298
		serbuk oral	298
		Siprofloksasin hidroklorida	59, 296–298
		Sistein hidroklorida	384
		<i>Sodium calcium edetate</i>	378
		<i>Sodium chloride</i>	379
		<i>Sodium citrate</i>	380
		<i>Sodium salicylate</i>	278
<b>R</b>			
Reaksi identifikasi	514, 516		
Retinol	390–391, 412, 421, 425–427, 439–441, 454–455, 473–474		
Riboflavin	393, 408–412, 415–421, 424–425, 431–433, 436–440, 446–447, 450–454, 460, 462, 464–467		
Ronidazol	278		
<i>Ronidazole</i>	278		
<b>S</b>			
<i>Salicylic acid</i>	60		
Salisilat natrium	278, 524, 527		
Sarafloksasin hidroklorida	279		
<i>Sarafloxacin hydrochloride</i>	279		
Sediaan			
cair dan serbuk untuk pemakaian pada kulit	10		
larutan pekat	10		
<i>pour-on</i>	11		
serbuk topikal	11		
<i>spot-on</i>	11		
<i>spray</i>	11		
<i>teat dips</i>	11		
<i>teat spray</i>	11		
<i>udder-washes</i>	11		
granul	13		
efervesen	14		
salut	14		
tahan asam lambung	14		
intramamari	14–15		
intrauterin	15		
batang	16		
busa	16		
kapsul	16		
larutan, suspensi dan emulsi pekat	16		
semisolid	16		
tablet	15		
tablet untuk larutan dan suspensi	16		
parenteral	19		
gel untuk injeksi	21		
implan	21		

<i>Sodium selenite</i>	383	Sulfametoksipiridazin	325–327
<i>Spectinomycin dihydrochloride pentahydrate</i>	298	injeksi	326
Spektinomisin	299, 507	tablet	327
injeksi	300	Sulfanilamid	318–319, 327–329, 350
serbuk oral	301	<i>Sulfanilamide</i>	327
Spektinomisin dihidroklorida pentahidrat	298–301	<i>Sulfaquinoxaline</i>	319
Spektrofotometri	518, 520	<i>Sulfathiazole sodium</i>	328
cahaya tampak	518	Sulfatiazol	349–350
spektrum serapan inframerah	519	tablet	329
ultraviolet	518	Sulfatiazol natrium	328–329, 349–350
Spiramisin	113, 164, 301–305, 506–507	serbuk oral	349
serbuk oral	303		
<i>Spiramycin</i>	301		
Steroid		<b>T</b>	
pemeriksaan	495	Tablet	23
penetapan kadar	496	dispersibel	24
uji terhadap steroid asing	495	effervesen	24
Streptomisin	90–91, 306–307, 506–507	modifikasi pelepasan	25
Streptomisin sulfat	91, 165, 305–306	orodispersibel	24
injeksi	306	salut	24
<i>Streptomycin sulphate</i>	305	tahan cairan lambung	25
Sulfadiazin	307–311, 317, 321, 325, 527	tak bersalut	24
injeksi	308	yang dilarutkan	24
serbuk oral	309, 311	Testosteron	209, 329–332
suspensi oral	310	implan	331
tablet	311	injeksi	332
<i>Sulfadiazine</i>	307	<i>Testosterone</i>	329
<i>Sulfadiazine sodium</i>	308	<i>Testosterone phenylpropionate</i>	331
Sulfadiazin natrium	308–311	Testosteron fenilpropionat	77, 79, 331–332
<i>Sulfadimethoxine</i>	311	<i>Tetracycline</i>	334
Sulfadimetoksin	311, 527	<i>Tetracycline hydrochloride</i>	335
Sulfadimidin	311–315	Tetramisol	333
injeksi	313	serbuk oral	333
suspensi oral	314	<i>Tetramisole hydrochloride</i>	332
tablet	314	Tetramisol hidroklorida	332–333
<i>Sulfadimidine</i>	311	Tetrasiklin	234–237, 334–336, 506–507
<i>Sulfadimidine sodium</i>	312	Tetrasiklin hidroklorida	184–187, 231–232, 234–237, 334–336
Sulfadimidin natrium	312–314	<i>Thiamine hydrochloride</i>	392
Sulfadoksin	315–317	<i>Thiopental sodium</i>	350
injeksi	316	<i>Threonine</i>	386
tablet	317	Tiabendazol	32, 337–339
<i>Sulfadoxine</i>	315	serbuk oral	338
Sulfaguanidin	318	suspensi oral	338
<i>Sulfaguanidine</i>	318	tablet	339
Sulfakuinoksalin	319–321	<i>Tiabendazole</i>	337
larutan oral	319, 321	Tiamin	392, 408, 410–412, 415–421, 425, 437, 439–440, 451–454, 465–468
serbuk oral	320	tiamin hidroklorida	392, 408–412, 416–419, 421, 425, 431–433, 436–440, 446–447, 450–454, 460, 462, 464–467
Sulfamerazin	321–322, 328	Tiamulin	340, 342, 506–507
<i>Sulfamerazine</i>	321	serbuk oral	341
<i>Sulfamethizole</i>	322	Tiamulin hidrogen fumarat	339–342
<i>Sulfamethoxazole</i>	323	<i>Tiamulin hydrogen fumarate</i>	339
<i>Sulfamethoxyypyridazine</i>	325		
Sulfametizol	322–323		
Sulfametoksazol	323–325		
suspensi oral	324		





