

VALIDASI METODE PENETAPAN KADAR CYANOCOBALAMIN SECARA SPEKTROFOTOMETRI VISIBEL *DOUBLE BEAM*

Ricson P. Hutagaol dan Niken
F. MIPA Universitas Nusa Bangsa
Jl. K. H. Soleh Iskandar Km. 4, Cimanggu, Tanah Sareal – Bogor 16166
email : tufakmipa@yahoo.co.id

ABSTRACT

Validation of Determination Method of Cyanocobalamin Content by Visible Double Beam Spectrophotometry

Validation of new modification of or method, must be done before the validity of methods and tools used. A valid method will give accurate results so as to guarantee the quality of drugs. The increasing demand from consumers will need increasing vitamin B12, so need more validation methods of cyanocobalamin in the tablet dosage. Analysis of the studied parameter of linearity, accuracy, precision, robustness, specificity, and ranges. Analysis of cyanocobalamin is using a strong base anionic exchange resin for separation techniques in order to obtain pure cyanocobalamin, pure cyanocobalamin obtained after measuring through visible double beam spectrophotometry. The results of this validation of all parameters meet the requirements and acceptance criteria. Linearity parameter obtained results of the correlation coefficient (r) = 0,999 (minimum 0,98). Accuracy parameter of the results obtained between 98,12% - 99,44% (requirements between 98% - 102%). Precision parameter (repeatability method) obtained relative standard deviation (RSD) between 0,25% - 0,38% (requirements is less than 2%). Intermediate precision parameters between SBR obtained 0,00% (requirements is less than 2%). Robustness parameters obtained 98,24% recovery and RSD was 0,00% (requirements is between 98% - 102%) recovery and RSD less than 2% (meets the requirements). Specificity parameters obtained that the sample matrix did not affect the results of the analysis, so it could be concluded that the validation of method determination of cyanocobalamin measure was valid.

Key words : Method validation, cyanocobalamin, resin, spectrophotometry.

ABSTRAK

Menurut Harmita (2004), metode yang baru atau mengalami modifikasi, sebelum digunakan untuk penetapan rutin harus dilakukan validasi metode terlebih dahulu agar dapat diketahui keabsahan metode dan alat yang digunakan. Metode yang valid akan memberikan hasil yang akurat sehingga dapat menjamin mutu obat. Semakin meningkatnya permintaan dari konsumen akan kebutuhan vitamin B12 (*cyanocobalamin*), maka perlu dilakukan validasi metode terhadap kadar *cyanocobalamin* dalam sediaan tablet. Parameter analisis yang diteliti yaitu linieritas, akurasi, presisi, ketegaran, spesifisitas, dan rentang. Analisis *cyanocobalamin* ini menggunakan resin penukar anionik basa kuat untuk teknik pemisahan agar didapatkan *cyanocobalamin* murni, setelah didapatkan *cyanocobalamin* murni maka kadarnya dapat diukur secara spektrofotometri visible *double beam*. Hasil penelitian dari seluruh parameter validasi ini memenuhi persyaratan dan sesuai kriteria penerimaan. Parameter linieritas didapatkan hasil koefisien korelasi (r) = 0,999 sesuai persyaratan yaitu minimum 0,98. Parameter akurasi didapatkan hasil % *recovery* diantara 98,12% - 99,44% sesuai persyaratan yaitu diantara 98% - 102%. Parameter presisi (kedapatulangan metode) didapatkan hasil simpangan baku relatif (SBR) diantara 0,25% - 0,38% sesuai persyaratan yaitu lebih kecil dari 2%. Parameter presisi antara didapatkan SBR 0,00% sesuai persyaratan yaitu lebih kecil dari 2%. Parameter ketegaran didapatkan hasil % *recovery* 98,24% dan SBR 0,00% sesuai persyaratan yaitu % *recovery* diantara 98% - 102% serta SBR lebih kecil dari 2% dengan demikian parameter rentang juga memenuhi persyaratan. Parameter spesifisitas diperoleh hasil bahwa matriks sampel tidak mempengaruhi hasil analisis, sehingga dapat disimpulkan bahwa validasi metode penetapan kadar *cyanocobalamin* adalah valid.

Kata kunci : Validasi metode, *cyanocobalamin*, resin, spektrofotometri.

PENDAHULUAN

Validasi metode adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memiliki persyaratan untuk penggunaannya. Validasi bertujuan untuk menjamin prosedur yang aman dan menekan sekecil mungkin risiko penyimpangan yang mungkin timbul. Hasil validasi metode dapat digunakan sebagai bahan acuan untuk menentukan suatu metode dapat digunakan untuk pemeriksaan rutin atau tidak (Harmita, 2004).

Cyanocobalamin disebut juga vitamin B12 merupakan senyawa berbentuk kristal, berwarna merah, dan secara kimia merupakan vitamin yang paling kompleks (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995). Vitamin B12 merupakan salah satu vitamin yang penting bagi tubuh serta semakin meningkatnya permintaan konsumen akan vitamin B12 di pasaran saat ini, maka dilakukan penelitian mengenai validasi metode terhadap kadar *cyanocobalamin* dalam sediaan tablet secara spektrofotometri visible *double beam*, karena metode yang valid akan memberikan hasil analisis yang akurat sehingga dapat menjamin mutu obat tersebut.

Resin penukar anionik basa kuat yang mempunyai gugus $-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}^-$ mampu memisahkan zat warna serta matriks tablet yang ada pada sediaan tablet yang mengandung *cyanocobalamin* sehingga akan didapatkan *cyanocobalamin* murni yang berwarna, oleh karena itu kadar *cyanocobalamin* bisa ditentukan menggunakan spektrofotometer visibel *double beam* (Nalco Chemical Company, 2006). Berdasarkan sifat *cyanocobalamin* yang tidak stabil dengan udara dan cahaya maka penentuan kadar baku *cyanocobalamin* dilakukan menggunakan harga ekstingsi spesifik ($E^{1\%}_{1\text{cm}}$) yang ditentukan pada panjang gelombang maksimum 361 nm. Menurut *europen pharmacopoeia* harga $E^{1\%}_{1\text{cm}}$ untuk *cyanocobalamin* = 207, dari harga $E^{1\%}_{1\text{cm}}$ ini akan didapatkan nilai absorpsi

spesifik untuk *cyanocobalamin* yang besarnya sesuai dengan konsentrasi larutan yang dianalisis sehingga bisa didapatkan kadar standar baku *cyanocobalamin*. Selain itu *cyanocobalamin* mempunyai dua panjang gelombang maksimum yaitu pada 361 nm dan 550 nm. Panjang gelombang 361 nm merupakan panjang gelombang mutlak untuk menentukan kadar standar baku *cyanocobalamin* sedangkan panjang gelombang maksimum untuk sampel bisa menggunakan panjang gelombang 361 nm atau 550 nm tergantung dari sifat obat yang dianalisis. *Cyanocobalamin* yang digunakan untuk standar baku dan sampel sama yaitu berasal dari satu bahan baku (The Committee On JP, 2006).

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan – bahan yang digunakan dalam uji validasi metode analisis ini adalah *cyanocobalamin* buatan Sanovi Aventis, asam klorida p.a buatan Merck, Dowex 1-x4 type 100-200 *mesh* buatan Muromachi Technos, asam asetat (*glacial*) 100% p.a buatan Merck, akuades, dan placebo sediaan tablet *cyanocobalamin*. Peralatan yang digunakan dalam uji validasi metode analisis ini adalah pipet volumetrik (ukuran 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml, 6 ml, 10 ml, dan 30 ml), neraca analitik merek Sartorius, labu ukur cokelat (ukuran 50 ml dan 100 ml), *stirrer*, piala gelas 300 ml, pipet tetes, *bulp*, kuvet 10 mm, lemari pendingin, labu semprot, tisu, *shaker*, *centrifuge* merek Hettich Mikro 22 R, tabung *centrifuge*, kolom kromatografi berbentuk buret merek Iwata, corong, tabung reaksi 100 ml, *alu voil*, spatula, statip buret, dan spektrofotometer UV-VIS model U2001 merek Hitachi.

Metode Penelitian

1. Penyiapan Matriks Sampel
2. Penyiapan Kolom Kromatografi
 - a. Kolom kromatografi : resin penukar anionik basa kuat (Dowex 1-x4, Cl type, 100 – 200 *mesh*).

- b. Penyiapan kolom : setelah resin Dowex dicuci dengan cara dekantasi, dengan menggunakan akuades, Dowex dimasukkan ke dalam kolom kaca hingga tinggi kira – kira 7 cm, dilewatkan 6 x 25 ml asam asetat 6 N melalui kolom lalu dibilas dengan air hingga netral. Kolom diatur hingga 5 cm sebelum digunakan.

3. Penyiapan Larutan Standar

Cyanocobalamin yang telah dikeringkan selama ± 2 jam pada suhu 105 °C ditimbang ± 50 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur cokelat 50 ml, dilarutkan dan diencerkan dengan akuades hingga tanda batas, kemudian dikocok hingga homogen. Larutan standar ini adalah larutan standar induk yang digunakan untuk larutan standar baku dan larutan standar sampel *cyanocobalamin*. Penyiapan larutan standar baku *cyanocobalamin* yaitu dengan cara larutan standar induk dipipet 4 ml dimasukkan ke dalam labu ukur cokelat 100 ml, dilarutkan dan diencerkan dengan akuades hingga tanda batas, kemudian dikocok hingga homogen dan diukur pada λ maksimum 361 nm dengan spektrofotometer UV – VIS, dan digunakan air sebagai blanko. Penyiapan larutan standar sampel *cyanocobalamin* yaitu dengan cara larutan standar induk dipipet 10 ml, dimasukkan ke dalam labu ukur cokelat 100 ml, dilarutkan dan diencerkan dengan HCl 0,1 N hingga tanda batas, kemudian dikocok hingga homogen. Larutan tersebut dipipet tepat 60 ml, dilewatkan melalui kolom yang dikemas dengan resin penukar ion bersifat basa kuat, dibawah kolom ditempatkan labu ukur 100 ml berwarna cokelat sebagai penampung. Setelah itu kolom dibilas tiga kali setiap kali dengan 10 ml HCl 0,1 N digabungkan bilasan dan ditambahkan HCl 0,1 N hingga 100 ml kemudian dikocok hingga homogen dan diukur pada λ maksimum 550 nm dengan spektrofotometer UV – VIS dan digunakan HCl 0,1 N sebagai blanko.

4. Penyiapan Larutan Sampel

- a. Parameter Akurasi, Presisi (Kedapatulangan Metode), Presisi Antara, dan Rentang

Lima belas buah tabung *centrifuge* ukuran 50 ml disiapkan dan diberi identitas. Matriks tablet masing-masing ditimbang $\pm 7,59$ gram (setara dengan 20 tablet) lalu dimasukkan ke dalam setiap tabung *centrifuge* beserta larutan *stock* untuk masing-masing konsentrasi secara kuantitatif ke dalam setiap tabung *centrifuge* sesuai dengan ketentuan pada Tabel 1 dan penyiapan larutan *stock* ini dapat dilihat pada bagian penyiapan larutan *stock cyanocobalamin*. Setiap tabung *centrifuge* ditambahkan 30 ml HCl 0,1 N dikocok selama 10 menit dengan *shaker*, dipisahkan dengan *centrifuge*, dan diambil cairan supernatan dimasukkan ke dalam labu ukur cokelat 100 ml. Endapan yang berada di dalam *centrifuge* diekstrak lagi dengan 3 x 20 ml HCl 0,1 N dan cairan supernatan kembali dimasukkan ke dalam labu ukur cokelat 100 ml lalu ditambahkan HCl 0,1 N sampai tanda batas 100 ml kemudian dikocok hingga homogen. Cairan supernatan ini disaring lalu dipipet 60 ml dan dimasukkan ke dalam kolom kromatografi. Hasil kromatografi ditampung ke dalam labu ukur cokelat 100 ml, kemudian kolom dicuci dengan 10 ml HCl 0,1 N sebanyak 3 kali dan ditampung dalam labu ukur yang sama. Volume labu ukur diimpitkan hingga 100 ml dengan HCl 0,1 N, dikocok hingga homogen, diukur pada λ maksimum 550 nm dengan spektrofotometer UV – VIS, dan digunakan HCl 0,1 N sebagai blanko. Khusus untuk pengujian presisi antara hanya dilakukan pada konsentrasi 100 % yang diulang sebanyak 3 kali dan dikerjakan oleh orang yang berbeda.

- b. Parameter Linieritas

Lima buah labu ukur cokelat ukuran 100 ml disiapkan, diberi tanda pada labu untuk setiap variasi konsentrasi, dan ditambahkan larutan *stock D* sesuai dengan konsentrasi yang ada pada Tabel 2. Penyiapan larutan *stock D* dapat dilihat pada bagian penyiapan larutan *stock*

cyanocobalamin. Setiap labu ukur diencerkan dengan HCl 0,1 N hingga tanda batas, kemudian dikocok hingga homogen dan diukur pada λ maksimum 550 nm dengan spektrofotometer UV – VIS dan digunakan HCl 0,1 N sebagai blanko.

Tabel 1. Penambahan Larutan *Stock* pada Sampel Akurasi dan Pesis

Identitas Sampel	Variasi Konsentrasi (% terhadap konsentrasi sampel b/v)	Ulangan	Larutan <i>Stock</i> A (ml)	Larutan <i>Stock</i> B (ml)	Larutan <i>Stock</i> C (ml)
SK 1-1	80	1	-	4	-
SK 1-2	80	2	-	4	-
SK 1-3	80	3	-	4	-
SK 2-1	90	1	-	-	10
SK 2-2	90	2	-	-	10
SK 2-3	90	3	-	-	10
SK 3-1	100	1	-	5	-
SK 3-2	100	2	-	5	-
SK 3-3	100	3	-	5	-
SK 4-1	110	1	10	-	-
SK 4-2	110	2	10	-	-
SK 4-3	110	3	10	-	-
SK 5-1	120	1	-	6	-
SK 5-2	120	2	-	6	-
SK 5-3	120	3	-	6	-

Tabel 2. Penambahan Larutan *Stock* pada Sampel Linieritas

Identitas Sampel	Variasi Konsentrasi (% terhadap konsentrasi sampel b/v)	Larutan <i>Stock</i> D (ml)
SL-1	50	2
SL-2	75	3
SL-3	100	4
SL-4	125	5
SL-5	150	6

a. Parameter Spesifisitas

Pengujian spesifisitas sama dengan pengujian akurasi, presisi (kedapatulangan metode) dan rentang tetapi tanpa penambahan larutan *stock* dan hanya menggunakan matriks tablet.

b. Parameter Ketegaran

Sampel SK 3-1, SK 3-2, dan SK 3-3 yang digunakan untuk pengujian parameter akurasi, presisi (kedapatulangan metode), dan rentang disimpan pada suhu 15 °C selama 24 jam. Kemudian diukur absorbansi sampel pada λ maksimum 550 nm dengan spektrofotometer UV-VIS menggunakan larutan standar yang baru yang disiapkan seperti pada penyiapan larutan standar untuk sampel, dan digunakan HCl 0,1 N sebagai blanko.

5. Penyiapan Larutan *Stock* *Cyanocobalamin*

a. Larutan *Stock* A

Cyanocobalamin yang telah dikeringkan selama ± 2 jam pada suhu 105°C ditimbang ± 110 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur cokelat 100 ml, dilarutkan dan diencerkan dengan HCl 0,1 N hingga tanda batas, kemudian dikocok hingga homogen.

b. Larutan *Stock* B

Cyanocobalamin yang telah dikeringkan selama ± 2 jam pada suhu 105°C ditimbang ± 200 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur cokelat 100 ml, dilarutkan dan diencerkan dengan HCl 0,1 N hingga tanda batas, kemudian dikocok hingga homogen.

c. Larutan *Stock* C

Cyanocobalamin yang telah dikeringkan selama ± 2 jam pada suhu 105°C ditimbang ± 90 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur cokelat 100 ml, dilarutkan dan diencerkan dengan HCl 0,1 N hingga

tanda batas, kemudian dikocok hingga homogen.

d. Larutan *Stock* D

Cyanocobalamin yang telah dikeringkan selama ± 2 jam pada suhu 105°C ditimbang ± 150 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur cokelat 100 ml, dilarutkan dan diencerkan dengan HCl 0,1 N hingga tanda batas, kemudian dikocok hingga homogen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Linieritas

Menurut International Conference Harmonization Guidelines (1994), linieritas merupakan kemampuan metode analisis yang memberikan respon secara langsung terhadap konsentrasi analit dalam contoh. Linieritas atau kecenderungan korelasi antara dua variable biasanya dinyatakan dalam koefisien korelasi (r). Hasil analisis didapatkan harga $r = 0,999$ dimana sesuai dengan persyaratan penerimaan r dalam sediaan obat yaitu $> 0,98$. Hal ini menandakan sampel yang dianalisis stabil dan homogen. Hasil linieritas *cyanocobalamin* dapat dilihat pada Tabel 3 dan kurva hasil uji linieritas *cyanocobalamin* dapat dilihat pada Gambar 1.

B. Presisi

Menurut Harmita (2004), pengujian presisi kedapatulangan metode dilakukan sebanyak 15 kali pengukuran kadar. Memenuhi persyaratan penerimaan jika simpangan baku relatif (SBR) $\leq 2\%$. Berdasarkan uji presisi untuk kedapatulangan metode diperoleh hasil SBR yang memenuhi persyaratan yaitu 80% = 0,30%, 90% = 0,38%, 100% = 0,33%, 110% = 0,26% dan 120% = 0,25%. Hasil presisi untuk kedapatulangan metode *cyanocobalamin* dapat dilihat pada Tabel 4 dan diagram presisi untuk kedapatulangan metode *cyanocobalamin* dapat dilihat pada Gambar 2.

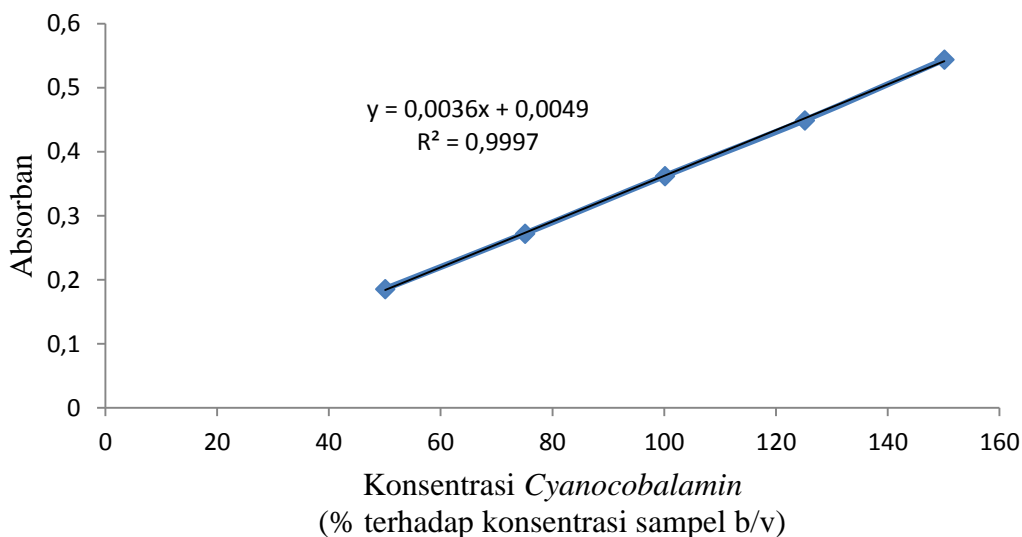
C. Presisi Antara

Menurut International Conference Harmonization Guidelines (1994), pengujian presisi antara dilakukan tiga kali ulangan oleh orang yang berbeda dan pada waktu yang berbeda pula. Memenuhi persyaratan penerimaan jika $SBR \leq 2\%$.

Berdasarkan uji presisi antara yang dilakukan terhadap *cyanocobalamin* diperoleh SBR yang kurang dari 2 yaitu 0,00% hasil ini memenuhi persyaratan. Hasil presisi antara *cyanocobalamin* dapat dilihat pada Tabel 5 dan diagram presisi antara *cyanocobalamin* dapat dilihat pada Gambar 3.

Tabel 3. Hasil Linieritas *Cyanocobalamin*

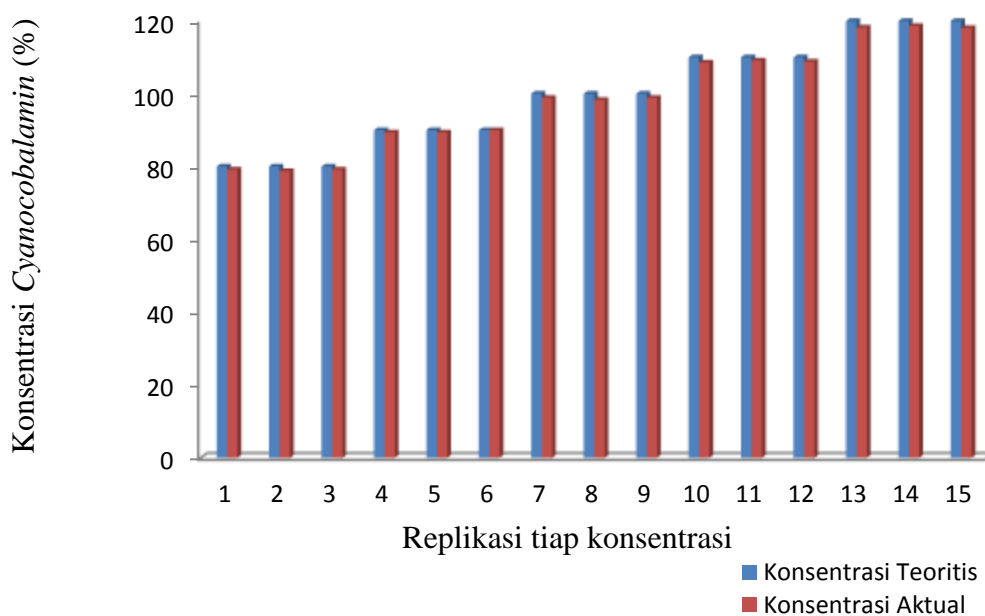
No.	Konsentrasi Teoritis (% terhadap konsentrasi sampel b/v)	Bobot Sampel Aktual (mg)	Absorban Sampel Rata – Rata	Konsentrasi Terkoreksi (% terhadap konsentrasi sampel b/v)	R
1.	50		0,1855	50,05	
2.	75		0,272	75,08	
3.	100	0,07508	0,362	100,11	0,999
4.	125		0,449	125,13	
5.	150		0,544	150,16	



Gambar 1. Kurva Linieritas *Cyanocobalamin*

Tabel 4. Hasil Presisi untuk Kedapatulangan Metode *Cyanocobalamin*

Kode Sampel	Konsentrasi Teoritis (% terhadap konsentrasi sampel b/v)	Bobot Sampel Aktual (mg)	Absorban Sampel Rata – Rata	Bobot Standar Aktual (mg)	Absorban Standar Rata – Rata	Konsentrasi Aktual (% terhadap konsentrasi sampel b/v)	SBR (%)
1-1	80		0,2855			79,17	
1-2	80	200,16	0,284	50,00	0,361	78,76	0,30
1-3	80		0,2855			79,17	
2-1	90		0,305			89,36	
2-2	90	90,24	0,305	50,22	0,34375	89,36	0,38
2-3	90		0,307			89,95	
3-1	100		0,349			98,85	
3-2	100	200,01	0,347	50,03	0,35225	98,28	0,33
3-3	100		0,349			98,85	
4-1	110		0,385			108,56	
4-2	110	110,09	0,387	50,02	0,35375	109,12	0,26
4-3	110		0,386			108,84	
5-1	120		0,4225			118,17	
5-2	120	200,24	0,424	50,06	0,356	118,59	0,25
5-3	120		0,422			118,03	

Gambar 2. Diagram Hasil Uji Presisi untuk Kedapatulangan Metode *Cyanocobalamin*

Tabel 5. Hasil Presisi Antara Cyanocobalamin

Kode Sampel	Konsentrasi Teoritis (% terhadap konsentrasi sampel b/v)	Bobot Sampel Aktual (mg)	Absorban Sampel Rata – Rata	Bobot Standar Aktual (mg)	Absorban Standar Rata – Rata	Konsentrasi Aktual (% terhadap konsentrasi sampel b/v)	SBR (%)
3-4	100		0,348			99,16	
3-5	100	200,95	0,348	50,50	0,3525	99,16	0,00
3-6	100		0,348			99,16	

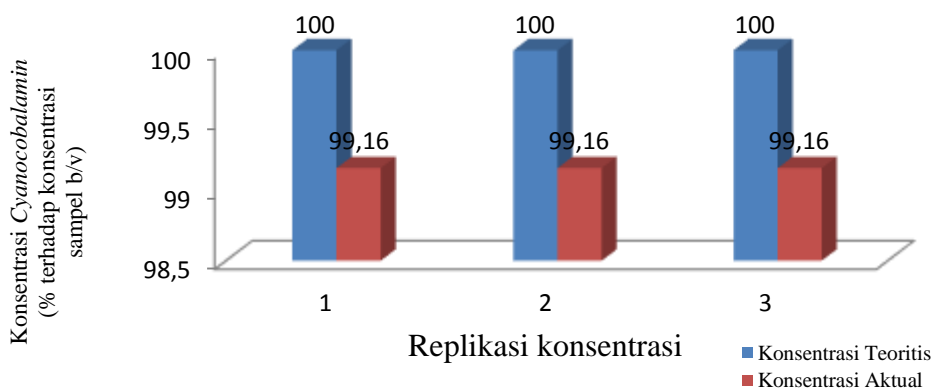
A. Akurasi

Menurut Firdaus (2004), akurasi merupakan ukuran ketepatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi sering dinyatakan sebagai perolehan kembali atau *recovery*. Uji akurasi menunjukkan ketepatan antara nilai yang dihasilkan pada saat penetapan kadar cyanocobalamin dengan nilai sebenarnya. Hasil perolehan kembali (*recovery*) yang didapat dari hasil analisis adalah 98,12% - 99,44% dengan demikian akurasi hasil analisis yang didapatkan telah memenuhi persyaratan yaitu 98% - 102%. Hasil akurasi cyanocobalamin dapat dilihat pada Tabel 6 dan diagram akurasi cyanocobalamin dapat dilihat pada Gambar 4.

B. Ketegaran

Menurut Harmita (2004), ketegaran merupakan kapasitas suatu

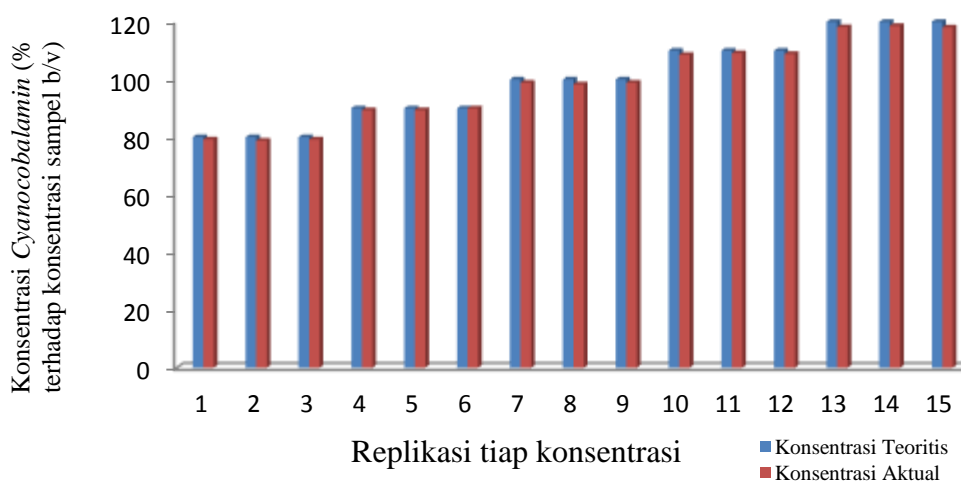
prosedur analitik untuk tidak terpengaruh oleh variasi kecil dalam parameter metode yang akan memberikan indikasi kehandalan prosedur analitik selama aplikasi yang normal. Parameter yang diuji pada validasi metode ketegaran bisa berupa pengaruh waktu penyimpanan. Memenuhi persyaratan penerimaan jika $SBR \leq 2\%$ dan % *recovery* 98% - 102%. Berdasarkan uji ketegaran yang dilakukan pada konsentrasi 100% sebanyak 3 kali diperoleh SBR yang kurang dari 2% yaitu 0,00% dan hasil perolehan kembali (*recovery*) yaitu 98,24% dengan demikian hasil analisis yang didapatkan telah memenuhi persyaratan SBR dan *recovery*. Hal ini menandakan kestabilan sampel yang telah didiamkan selama 24 jam di dalam lemari pendingin bersuhu sekitar 15°C. Hasil ketegaran cyanocobalamin dapat dilihat pada Tabel 7 dan diagram ketegaran cyanocobalamin dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 3. Diagram Hasil Uji Presisi Antara Cyanocobalamin

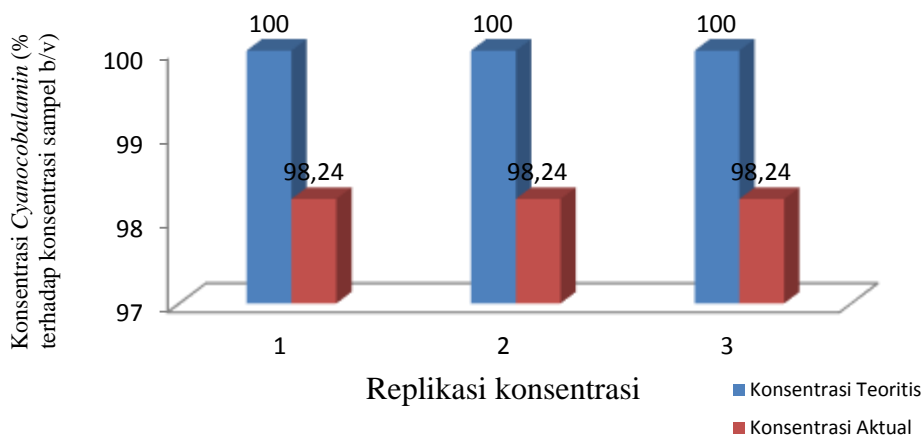
Tabel 6. Hasil Akurasi *Cyanocobalamin*

Kode Sampel	Konsentrasi Teoritis (% terhadap konsentrasi sampel b/v)	Bobot Sampel Aktual (mg)	Absorban Sampel Rata – Rata	Bobot Standar Aktual (mg)	Absorban Standar Rata – Rata	Konsentrasi Aktual (% terhadap konsentrasi sampel b/v)	Recovery (%)
1-1	80		0,2855			79,17	98,92
1-2	80	200,16	0,284	50,00	0,361	78,76	98,41
1-3	80		0,2855			79,17	98,92
2-1	90		0,305			89,36	98,79
2-2	90	90,24	0,305	50,22	0,34375	89,36	98,79
2-3	90		0,307			89,95	99,44
3-1	100		0,349			98,85	98,85
3-2	100	200,01	0,347	50,03	0,35225	98,28	98,28
3-3	100		0,349			98,85	98,85
4-1	110		0,385			108,56	98,42
4-2	110	110,09	0,387	50,02	0,35375	109,12	98,92
4-3	110		0,386			108,84	98,67
5-1	120		0,4225			118,17	98,24
5-2	120	200,24	0,424	50,06	0,356	118,59	98,59
5-3	120		0,422			118,03	98,12

Gambar 4. Diagram Hasil Uji Akurasi *Cyanocobalamin*

Tabel 7. Hasil Ketegaran *Cyanocobalamin*

Kode Sampel	Konsentrasi Teoritis (% terhadap konsentrasi sampel b/v)	Bobot Sampel Aktual (mg)	Absorban Sampel Rata – Rata	Bobot Standar Aktual (mg)	Absorban Standar Rata – Rata	Konsentrasi Aktual (% terhadap konsentrasi sampel b/v)	SBR (%)	Recovery (%)
3-1	100		0,354			98,24		98,24
3-2	100	200,01	0,354	50,00	0,361	98,24	0,00	98,24
3-3	100		0,354			98,24		98,24

Gambar 5. Diagram Hasil Uji Ketegaran *Cyanocobalamin*

F. Ketegaran

Dilakukan juga pengukuran puncak untuk larutan matriks tablet dengan spektrofotometer visibel *double beam* yang bertujuan untuk menunjukkan bahwa pada panjang gelombang maksimum 550 nm dari sampel sediaan tablet *cyanocobalamin* matriks tablet tidak memberikan serapan yang berarti.

G. Rentang

Berdasarkan hasil analisis dari parameter presisi dan akurasi pada rentang konsentrasi yang dipersyaratkan, dimana

% *recovery* dan simpangan baku relatif memenuhi kriteria penerimaan, maka dapat disimpulkan untuk parameter rentang pada validasi metode penetapan kadar *cyanocobalamin* ini juga memenuhi kriteria penerimaan yang disyaratkan.

KESIMPULAN

1. Metode penetapan kadar *cyanocobalamin* dinyatakan valid.
2. Hasil parameter ketegaran didapatkan hasil yang stabil untuk penyimpanan larutan sampel selama 24 jam pada lemari pendingin bersuhu 15°C.

DAFTAR PUSTAKA

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmacope Indonesia*. Edisi IV.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Firdaus, D. R. 2004. *Validasi Metode Analisis C-14 Menggunakan Teknologi Preparasi Tangkapan Gas CO₂ Dalam Sistem Loop*. Skripsi. Universitas Nusa Bangsa. Bogor.
- Harmita. 2004. Validasi Metode Analisis. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Volume I, Nomor 3. Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia. Jakarta.
- International Conference Harmonization Guidelines. 1994. *Validation of Analytical Methods : Definitions and Terminology*. International Conference Harmonization Guidelines.
- Nalco Chemical Company. 2006. *Resin Rinse, Productivity Management for Ion Exchange*. USA.
- The Committee on JP. 2006. *The Japanese Pharmacopoeia*. Edisi XV. The Committee on JP. Jepang.