

UJI HOMOGENITAS DAN STABILITAS SAMPEL UJI PROFISIENSI SEDIAAN OBAT HEWAN Siprofloksasin Serbuk

MARIA FATIMA PALUPI, ROSANA ANITA SARI, UNANG PATRIANA, DYAH WIDYARIMBI,
EMI RUSMIATI

Unit Uji Farmasetik dan Premiks

*Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan, Gunungsindur, Bogor 16340,
Indonesia,*

ABSTRAK

Uji profisiensi telah digunakan secara luas untuk sejumlah tujuan dan penggunaannya meningkat secara internasional. Guna mengevaluasi kompetensi, laboratorium yang telah terakreditasi ISO 17025:2005 wajib mengikuti uji profisiensi yang diselenggarakan oleh penyelenggara uji profisiensi yang telah terakreditasi sesuai dengan ISO 17043:2008. Penyelenggara uji profisiensi harus mampu menyediakan satu panel sampel untuk uji profisiensi, baik melalui subkontrak atau disiapkan oleh penyelenggara itu sendiri. Sampel untuk uji profisiensi harus memenuhi persyaratan homogenitas dan stabilitas. BBPMSOH, dalam hal ini Unit Uji Farmasetik dan Premiks telah berhasil menyiapkan sampel untuk panel uji profisiensi untuk uji identitas dan uji kadar sediaan obat hewan siprofloksasin serbuk.

Kata kunci: uji profisiensi, siprofloksasin serbuk, homogenitas dan stabilitas

ABSTRACT

Proficiency tests are widely used for number of purposes and their use has been increasing internationally. Laboratory that already been accredited with ISO 17025:2005 must participate in a proficiency test (PT) that conducted by accredited laboratory for ISO 17043:2008 to evaluate their competency. Proficiency test providers shall provide samples for proficiency test panel, whether through subcontract or internal preparation. All samples must fulfill the homogeneity and stability requirements. Pharmaceutical and premix assay unit of NVDAL had successfully prepared samples for identity and content tests of ciprofloxacin powder for PT Panel.

Keyword: proficiency test, ciprofloxacin powder, homogeneity and stability.

PENDAHULUAN

Uji profisiensi merupakan salah satu cara untuk mengetahui unjuk kerja laboratorium pengujian dengan cara uji banding antar laboratorium atau evaluasi kinerja peserta uji terhadap kriteria yang telah ditetapkan sebelumnya melalui uji banding antar laboratorium^(4,5). Secara umum uji profisiensi dilakukan oleh laboratorium minimal satu kali dalam setahun⁽⁴⁾. Uji profisiensi telah digunakan secara luas untuk sejumlah tujuan, yaitu^(4,5,9):

- Evaluasi kinerja laboratorium dalam pengujian atau pengukuran tertentu dan pemantauan kinerja laboratorium berkesinambungan
- Identifikasi permasalahan di laboratorium serta inisiasi tindakan untuk peningkatan
- Penetapan efektifitas dan kesebandingan metode uji atau menentukan validasi metode
- Peningkatan kepercayaan pelanggan terhadap laboratorium
- Identifikasi perbedaan antar laboratorium
- Edukasi bagi laboratorium-laboratorium peserta yang berpartisipasi berdasarkan hasil uji profisiensi
- Validasi klaim ketidakpastian
- Kalibrasi yang tidak dapat sepenuhnya dilaksanakan dalam satuan sistem internasional.

Dalam menyelenggarakan uji profisiensi, pihak penyelenggara harus mampu menyediakan satu panel contoh bagi para peserta⁽³⁾. Sampel ini bisa didapatkan melalui subkontrak maupun disediakan oleh penyelenggara itu sendiri. Sampel yang digunakan harus memenuhi persyaratan homogenitas dan stabilitas^(2,5,6). Hal ini untuk menghindari bias hasil uji yang berasal dari sampel^(3,7). Kriteria homogenitas dan stabilitas yang tepat harus ditetapkan dan harus didasarkan pada pengaruh inhomogenitas dan instabilitas terhadap evaluasi kinerja peserta⁽⁵⁾.

BBPMSOH sejak tahun 2011 telah aktif mengikuti uji profisiensi yang diselenggarakan oleh penyelenggara uji profisiensi yang telah diakreditasi ISO 17043:2010 (ISO SNI/IEC 17043:2010) baik internasional seperti GD-Deventer, Belanda maupun

yang diselenggarakan oleh Komite Akreditasi Nasional. Selain sebagai peserta uji profisiensi, BBPMSOH juga aktif menyelenggarakan uji banding baik untuk produk biologik, farmasetik maupun patologi. Oleh sebab itu penting bagi BBPMSOH untuk mampu menyiapkan sampel uji banding dengan baik sehingga mampu memenuhi persyaratan dalam ISO SNI/IEC 17043:2010. Guna meningkatkan kelembagaan BBPMSOH maka pada tahun 2014, BBPMSOH menyelenggarakan uji profisiensi pengujian identitas dan kadar obat hewan siprofloksasin serbuk. Dalam makalah ini dibatasi pada pengujian homogenitas dan stabilitas sampel untuk uji profisiensi uji kadar sediaan obat hewan siprofloksasin serbuk.

MATERI DAN METODE

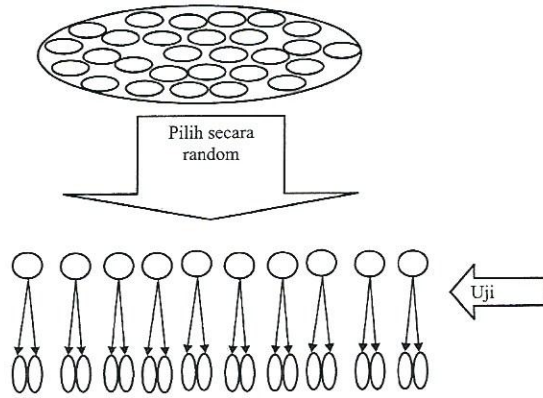
Materi dan Alat

Dua buah arsip sampel @ 100 g yang mengandung siprofloksasin 100 mg/g (menurut label). Kode arsip sampel adalah B dan C, larutan NaOH 0,1 N, air suling, tabung reaksi, labu ukur 100 mL, pipet volume 1 mL, 5 mL, 9 mL dan 10 mL, cuvet, spektrofotometer UV-VIS (Hitachi UV 1800, *Japan*), standar siprofloksasin (98%, Sigma-Aldrich, *Germany*)

Metode:

Uji Homogenitas

1. Metode uji homogenitas dilakukan sesuai dengan prinsip-prinsip yang terdapat dalam SNI/ISO/IEC 17043:2010 dan ISO 13528:2005^(2,7).
2. Uji homogenitas harus dilakukan sebelum sampel dikirimkan ke peserta uji profisiensi.
3. Dari tiap arsip sampel sampel yang telah dibagi menjadi kemasan-kemasan kecil @ 5 g, untuk selanjutnya disebut contoh, diambil minimal 10 kemasan.
4. Tiap kemasan diuji secara rpitabilitas duplo, baik uji identitas maupun kadar, tiap pengujian dilakukan oleh penguji yang sama dan menggunakan alat/ bahan yang sama. Skematik pengambilan dan pengujian sampel untuk uji stabilitas terdapat dalam Gambar 1. Skematik Uji Homogenitas



Gambar 1. Skematik Uji Homogenitas

5. Metode uji kadar dilakukan sesuai dengan dokumen IKP-FAR. 719 ⁽¹⁾ yaitu menimbang 1 gram sampel, larutkan dengan NaOH 0,1 N dalam labu ukur 100 mL. Kemudian dilakukan pengenceran bertingkat dengan menggunakan pelarut air suling hingga didapatkan konsentrasi akhir dari sampel adalah 5 ppm. Untuk standar, timbang 10,20 mg standar (ekuivalen dengan 10 mg siprofloksasin) dan larutkan dalam 10 mL NaOH 0,1 N. Hitung kadar sampel dengan menggunakan perhitungan satu titik dengan rumus berikut:

$$\% \text{ Kadar sampel} = \frac{\text{A sampel}}{\text{A standar}} \times \frac{\text{C standar}}{\text{C sampel}} \times 100\%$$

Keterangan:

A sampel = serapan sampel

A standar = serapan standar

C sampel = konsentrasi sampel (5 ppm)

C standar = konsentrasi standar (5 ppm)

6. Hanya sampel yang memenuhi syarat homogenitas yang digunakan dalam uji profisiensi ^(5,6). Persyaratan homogenitas adalah: $S_s \leq 0.3 \sigma$

Keterangan:

S_s = standar deviasi *between-sample*

σ = standar deviasi untuk asesmen profisiensi (SDPA) σ bisa ditetapkan melalui CV_{Horwitz}

7. Langkah perhitungan dan rumus-rumus yang digunakan adalah sebagai berikut:

a. Hitung rata-rata hasil uji siplo dan duplo (X_t) dengan rumus $X_{t..} = (X_{t,1} + X_{t,2})/2$, dimana hasil uji ke-1 ($X_{t,1}$) dan ke-2 ($X_{t,2}$)

- b. Hitung selisih absolut (W_t) dari hasil siplo dan duplo dengan rumus $W_t = |X_{t,1} - X_{t,2}|$
- c. Hitung rata-rata umum (*general average*) atau dikode dengan $X_{r..}$ dengan rumus $X_{r..} = \sum X_t / g$, dimana g adalah jumlah contoh yang digunakan
- d. Hitung standar deviasi dari rata-rata contoh (S_x) dengan rumus:

$$S_x = \sqrt{\sum (X_{t..} - X_{r..})^2 / (g - 1)}$$

$$S_w = \sqrt{\sum w_t^2 / (2g)}$$

- e. Hitung standar deviasi *within samples* (S_w) dengan rumus:
- f. Dan untuk menentukan homogenitas harus diketahui standar deviasi *between samples* (S_s) dengan menggunakan rumus:

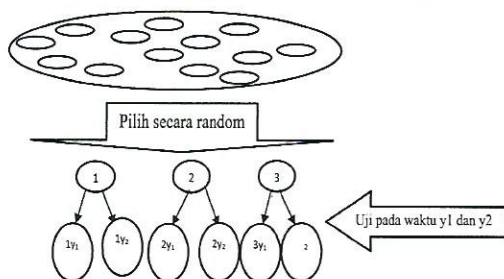
$$S_s = \sqrt{S_x^2 - (S_w^2 / 2)}$$

Uji Stabilitas

1. Uji stabilitas dilakukan sesuai dengan SNI ISO/IEC 17043:2010 dan ISO 13528:2005.
2. Uji stabilitas dilakukan pada saat sebelum sampel dikirimkan ke peserta dan setelah batas waktu peserta mengirimkan hasil uji ke penyelenggara.
3. Uji stabilitas dilakukan di unit uji yang sama dengan pelaksanaan uji homogenitas
4. Metode uji stabilitas dilakukan dengan metode yang sama dan ukur kadar siprofloksasin dalam contoh sesuai dengan uji kadar dalam pengujian homogenitas.
5. Pilih sejumlah g kemasan contoh secara random, dimana $g \geq 3$
6. Dari g kemasan contoh terpilih, bagi 2 setiap kemasan contoh untuk keperluan analisis duplo
7. Contoh sebanyak 2g dianalisis dalam urutan random dibawah kondisi riptabilitas. Skematik pengambilan sampel dan pengujian sampel terdapat dalam Gambar 2.
8. Hitung rata-rata kadar pengujian pertama (y_{1i}) dan pengujian kedua (y_{2i}) dari uji stabilitas

9. Hitung selisih rata-rata hasil pengujian yang diperoleh pada uji homogenitas (x_{r_i}) dengan rata-rata hasil yang diperoleh pada uji stabilitas (y_{r_i})
10. Sampel dikatakan stabil apabila:
 $I x_{r_i} - y_{r_i} \leq 0,3 \sigma$

Gambar 2. Skematik Uji Stabilitas



HASIL DAN PEMBAHASAN

HOMOGENITAS

Penyelenggara uji profisiensi harus mampu menyediakan data homogenitas dan stabilitas dari panel contoh yang dikirimkan^(3,6). Dari arsip sampel B dibagi menjadi 50 kemasan contoh (@ 5 g) dan secara random diambil 10 kemasan contoh yaitu no. 4, 6, 10, 14, 17, 24, 37, 39, 44 dan 50. Kesepuluh contoh tersebut kemudian dibagi 2, dan masing-masing diuji kadarnya (duplo). Pengujian dilakukan segera setelah contoh dikemas⁽³⁾. Hasil uji kadar siprofloksasin dan perhitungan yang diperlukan dalam homogenitas terdapat dalam Tabel 1.

*Kode atau angka yang dicetak tebal merupakan angka yang penting dalam rumus yang diperlukan dalam uji homogenitas.

Seperti disebutkan diatas, bahwa contoh dinyatakan stabil apabila $Ss \leq 0.3 \sigma$ ^(5,6). Nilai σ untuk uji siprofloksasin bisa ditetapkan melalui $CV_{Horwitz}$ ^(7,8). Adapun $CV_{Horwitz}$ dapat dicari dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$CV_{Horwitz} = 2^{1-0,5 \log C} \text{ (8)}$$

C adalah konsentrasi yang diukur yaitu 5 ppm atau $C = 0,000005$ dan dilakukan perhitungan dengan rumus tersebut sehingga didapatkan $CV_{Horwitz}$ adalah 12.56%. Dari data ini maka didapatkan bahwa nilai $0,3 \sigma$ adalah 3,77. Sehingga contoh untuk sampel B dinyatakan stabil karena Ss dari sampel B lebih kecil dari 0.3σ ($2,44 < 3,77$)

Sampel arsip C dibagi menjadi 40 kemasan contoh (@ 5 g) kemudian dipilih 10 secara sistematis dan didapatkan contoh nomor 4, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 31, 35 dan 39. Tiap contoh kemudian dibagi menjadi 2 dan diuji kadarnya secara duplo. Hasil uji kadar dan perhitungan homogenitas sampel C terdapat dalam Tabel 2. *Kode atau angka yang dicetak tebal merupakan angka yang penting dalam rumus yang diperlukan dalam uji homogenitas. Sebagaimana contoh B, maka contoh dari arsip sampel C juga menunjukkan homogenitas yang baik. Dimana Ss contoh C lebih kecil dari 0.3σ ($2,62 < 3,77$). Berdasarkan hasil uji homogenitas maka contoh B dan C memenuhi syarat homogen sebagai contoh uji profisiensi.

Tabel 1. Perhitungan Kadar Siprofloksasin dan Data Untuk Uji Homogenitas Sampel B (Rumus sesuai dengan ISO 13528:2008).

Kode Contoh	Hasil Uji Kadar (%)		Xt	Xt-Xr	(Xt-Xr) ²	Wt	Wt ²
	1	2					
1. (4)	99.62	106.07	102.85	2.87	8.21	6.45	41.62
2. (6)	104.17	98.48	101.33	1.35	1.82	5.69	32.41
3. (10)	109.68	100.95	105.31	5.33	28.43	8.73	76.19
4. (14)	97.91	100.38	99.15	-0.83	0.70	2.47	6.10
5. (17)	102.66	99.24	100.95	0.97	0.94	3.42	11.67
6. (24)	94.12	90.13	92.13	-7.86	61.71	3.98	15.88
7. (37)	104.55	100.76	102.66	2.68	7.16	3.80	14.40
8. (39)	103.61	98.10	100.85	0.87	0.76	5.50	30.28
9. (44)	98.67	92.60	95.64	-4.35	18.88	6.07	36.87
10. 50	94.69	103.23	98.96	-1.02	1.05	8.54	72.93
		Xr:	99.98	Σ :	129.66	Σ :	338.35
				Sx:	3.80	Sw:	4.11
				Sx ² :	14.41	Sw ² :	16.92
						Sw ² /2:	8.46
						Sx ² -(Sw ² /2):	5.95
						Ss:	2.44

Tabel 2. Perhitungan Kadar Siprofloksasin dan Data Untuk Uji Homogenitas Sampel C (Rumus sesuai dengan ISO 13528:2005).

Kode Contoh	Hasil Uji Kadar (%)		Xt	Xt-Xr	(Xt-Xr) ²	Wt	Wt ²
	1	2					
1. (4)	86.48	79.27	82.87	-4.78	22.81	7.20	51.91025
2. (6)	91.10	87.40	89.25	1.60	2.55	3.69	13.65161
3. (10)	82.78	85.92	84.35	-3.30	10.87	3.14	9.8596
4. (14)	85.00	82.41	83.71	-3.94	15.56	2.59	6.68929
5. (18)	88.69	85.55	87.12	-0.53	0.28	3.14	9.86329
6. (22)	92.57	85.37	88.97	1.32	1.74	7.20	51.91025
7. (26)	90.17	85.37	87.77	0.12	0.01	4.80	23.07122
8. (31)	91.65	95.90	93.77	6.12	37.51	4.25	18.0625
9. (35)	91.83	90.73	91.28	3.63	13.18	1.11	1.228645
10. (39)	86.48	88.32	87.40	-0.25	0.06	1.85	3.4225
		Xr:	87.65	Σ :	104.57	Σ :	189.6692
				Sx:	3.41	Sw:	3.079522
				Sx²:	11.62	Sw²:	9.483459
						Sw²/2:	4.741729
						Sx²- (Sw²/2):	6.88
						Ss:	2.62

Tabel 3. Data Stabilitas Contoh B

No	Kode Contoh	Hasil Uji Kadar (%) Tanggal Uji		Yt (%) (Rata-rata Y1 dan Y2)
		Y1 (22/04/2014)	Y2 (02/06/2014)	
1	(13)	96.38	97.97	98.05
2	(28)	95.62	102.21	98.14
3	(48)	96	98.71	97.36
			Yr (%):	97,85

Tabel 4. Data Stabilitas Contoh C

No	Kode Contoh	Hasil Uji Kadar (%) Tanggal Uji		Yt (%) (Rata-rata Y1 dan Y2)
		Y1 (22/04/2014)	Y2 (02/06/2014)	
1	(13)	88.95	88.01	88.48
2	(28)	91.94	87.82	89.88
3	(48)	94.86	98.34	96.60
			Yr (%):	91,65

STABILITAS

Uji stabilitas sangat penting dalam uji profisiensi karena uji ini untuk menunjukkan bahwa contoh uji tidak akan berubah secara signifikan⁽²⁾. Masing-masing dari kemasan contoh B dan C diambil 3 buah. Masing-masing kemasan contoh dibagi menjadi 2 dan diuji secara duplo. Pengujian pertama dilakukan pada saat sampel belum dikirimkan ke peserta (Y1) dan pengujian ke-2 dilakukan pada saat setelah para peserta uji profisiensi mengirimkan hasil uji. Sampel disimpan pada suhu kamar sesuai yang direkomendasikan oleh produsen. Hasil uji stabilitas contoh B terdapat dalam Tabel 3 dan C terdapat dalam Tabel 4.

Baik contoh dari arsip sampel B maupun arsip sampel C menunjukkan stabilitas yang baik. Hal ini dikarenakan nilai selisih X_r dan Y_r dari contoh arsip sampel B dan contoh arsip sampel C lebih kecil dari 0.3σ yaitu 2,14 dan 0,88. Sebagaimana dipersyaratkan dalam ISO 13528:2005 dan SNI ISO/IEC 17043:2010 bahwa sampel dinyatakan stabil apabila $[x_{r,u} - y_{r,u}] \leq 0,3 \sigma$.

KESIMPULAN

1. Contoh yang didapatkan dari arsip sampel B dan C memiliki homogenitas dan stabilitas yang baik
2. Contoh dari arsip sampel B dan C dapat digunakan sebagai sampel uji profisiensi

DAFTAR PUSTAKA

1. **Anonim**, 2014, Instruksi Kerja Pengujian Farmasetik dan Premiks Edisi 2 Revisi 1 (IKP. FAR 719), Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan.
2. **Carlile, Gemma**, 2013. Modul Workshop Komposisi Panel, Persiapan dan Pengujian Proficiency Test: Pertimbangan Sampel Uji dan Persyaratan untuk PT, 19-23 Agustus 2013. Kerjasama Australia Indonesia Partnership For emerging Infectious Disease.
3. **Carlile, Gemma & Loh M.H.** 2013. Panduan Pengoperasian Skema Uji Profisiensi: Perspektif PT AAHL. Australia Animal Health Laboratory.

4. **Hadi, Anwar**, 2007, Pemahaman dan Penerapan ISO/IEC 17925:2005: Persyaratan Umum Kompetensi Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi. Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama. Halaman 343-345
5. **Anonim**, ISO 17043:2010 (SNI ISO/IEC 17043:2010). Penilaian- Kesesuaian Umum Uji Profisiensi. ICS.03.120.20 Badan Standardisasi Nasional
6. **Anonim**, ISO 13528: 2005. *Statistical Methods for Use in Proficiency Testing By Interlaboratory Comparisons*.
7. **Kantasubrata J.** 2013. Uji Homogenitas dan Stabilitas dari Contoh Uji Profisiensi (Annex B dari ISO 13528). Dalam Workshop Internal "Penyelenggaraan Uji Profisiensi Sesuai SNI ISO/IEC 17043:2010, 28 November 2013 disampaikan oleh Drs. Nana Suryana, MSc.
8. **Kantasubrata J.** 2011. Modul Pelatihan dalam In House Training Validasi dan Verifikasi Pengujian di BBPMSOH, 24-25 Oktober 2011 Bekerjasama dengan BSN.
9. **World Organization for Animal Health (OIE)**. 2012. *Animal Terrestrial Manual. Quality Management in Veterinary Testing laboratories*.