



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**OPTIMASI PENETAPAN KADAR SISPLATIN DALAM  
CAMPURAN INFUS SISPLATIN DENGAN ONDANSETRON  
HIDROKLORIDA MENGGUNAKAN PEREAKSI  
DIETILDITIOKARBAMAT SECARA KROMATOGRAFI  
CAIR KINERJA TINGGI**

**TESIS**

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains pada  
program pasca sarjana ilmu kefarmasian FMIPA-UI

**Oleh :**

**ARMON FERNANDO  
NPM : 0606002194**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
PROGRAM PASCA SARJANA  
PROGRAM STUDI ILMU FARMASI  
DEPOK**

**2009**

JUDUL : OPTIMASI PENETAPAN KADAR SISPLATIN DALAM  
CAMPURAN INFUS SISPLATIN DENGAN ONDANSETRON  
HIDROKLORIDA MENGGUNAKAN PEREAKSI  
DIETILDITIOKARBAMAT SECARA KROMATOGRAFI CAIR  
KINERJA TINGGI

NAMA : ARMON FERNANDO

NPM : 0606002194

MENYETUJUI

Komisi Pembimbing

Dr. Yahdiana Harahap, MS

Pembimbing I

Dra. Rizka Andalusia, M.Pharm, MARS

Pembimbing II

## HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :  
Nama : Armon Fernando  
NPM : 0606002194  
Program Studi : Ilmu Kefarmasian  
Judul tesis : Optimasi Penetapan Kadar Sisplatin Dalam Campuran  
Infus Sisplatin Dengan Ondansetron Hidroklorida  
Menggunakan Pereaksi Dietilditiokarbamat Secara  
Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Ilmu Kefarmasian, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

## DEWAN PENGUJI

Ketua	: Drs. Umar Mansur, MSc.	(	)
Pembimbing I	: Dr. Yahdiana Harahap, MS	(	)
Pembimbing II	: Dra. Rizka Andalusia, M.Pharm, MARS	(	)
Penguji	: Dr. Harmita	(	)
Penguji	: Dr. Herman Suryadi, MS	(	)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 13 Juli 2009

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Allah SWT atas segala limpahan rahmat, karunia dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan tesis ini. Tesis dengan judul penetapan kadar sisplatin dalam campuran infus sisplatin dengan ondansetron hidroklorida menggunakan pereaksi dietilditiokarbamat secara kromatografi cair kinerja tinggi-detektor uv-vis ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar magister pada program ilmu kefarmasian FMIPA Universitas Indonesia.

Dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MS selaku pembimbing I yang telah memberikan bantuan dan bimbingan serta motivasi kepada penulis hingga terselesaikannya penelitian dan penyusunan tesis ini.
2. Ibu Dra. Rizka Andalusia, M.Pharm, MARS selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penelitian dan penyusunan tesis ini.
3. Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian.
4. Ibu Prof. Dr. Effionora Anwar, MS., selaku Ketua Program Pasca Sarjana Farmasi FMIPA UI.
5. Dr. Yahdiana Harahap, MS kepala laboratorium BA/BE Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan izin penelitian.
6. Bapak Ketua Jurusan Farmasi FKIK UIN SYAHID beserta staf dosen. yang telah banyak membantu penulis selama penelitian dan penyusunan tesis ini.
7. Rina, Mahi, Ami dan Mela teknisi laboratorium Bioavailabilitas/Bioequivalensi Farmasi FMIPA UI.
8. Dewi Nurmalasyari, S. Farm., Apt. yang telah banyak membantu penulis selama penelitian dan penyusunan tesis ini.
9. Seluruh teman-teman S2 angkatan 2006, khususnya bidang Kimia Farmasi.
10. Kakak-kakak serta keponakan tercinta atas segala doa dan perhatian yang diberikan yang memberikan inspirasi dan semangat kepada penulis

11. PT. Kalbe Farma Industri Farmasi atas bantuan zat aktif.

Penulis menyadari penelitian dan penyusunan tesis ini masih jauh dari sempurna dan karenanya penulis memohon maaf atas segala kesalahan yang ada. Semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan dan bagi orang yang membacanya.

Penulis

2009

## Abstrak

Nama : Armon Fernando  
Program Studi : Ilmu Kefarmasian  
Judul : Optimasi Penetapan kadar sisplatin dalam campuran infus sisplatin dengan ondansetron hidroklorida menggunakan pereaksi dietilditiokarbamat secara kromatografi cair kinerja tinggi.

Penelitian ini melakukan optimasi metode analisis penetapan kadar sisplatin secara kromatografi cair kinerja tinggi melalui derivatisasi menggunakan pereaksi dietilditiokarbamat untuk meningkatkan selektivitas dan sensitifitasnya terhadap detektor Uv-Vis, karena senyawa sisplatin tidak mempunyai gugus kromofor yang dapat terdeteksi oleh detektor ultraviolet. Menentukan kadar ondansetron hidroklorida dalam sampel dicobakan mengoptimasi penggunaan kolom fase terbalik C18 yang belum umum untuk penetapan kadar ondansetron. Sisplatin mempunyai efek samping emetogenik kuat yang dapat di hambat oleh ondansetron melalui inhibitor reseptor 5-HT<sub>3</sub> yang sangat efektif untuk pencegahan mual dan muntah selama kemoterapi sisplatin yang diberikan secara terpisah melalui intravena. Pemberian antiemetik bersamaan dengan kemoterapi dalam satu rute pemberian diharapkan lebih efektif dan efisien untuk penanganan kemoterapi kanker. Pemberian dalam satu rute secara bersamaan harus dilakukan evaluasi stabilitas kimia campuran sisplatin dan ondansetron hidroklorida dalam satu larutan infus NaCl 0,9 % selama 24 jam kemoterapi kanker.

Sisplatin dianalisis menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi melalui derivatisasi dengan pereaksi natrium dietilditiokarbamat 10% dalam NaOH 0,2N. Derivat sisplatin-dietilditiokarbamat dielusi menggunakan fase gerak asetonitril-air (70:30 %v/v) dengan kecepatan alir 0,8 ml/menit pada kolom Knauer<sup>®</sup> C18-RP (250 x 4,6 mm, 5 $\mu$ m). Ondansetron hidroklorida dianalisis dan dipisahkan menggunakan kolom Sunfire Waters<sup>®</sup> C18-RP (25 cm x 4,6 mm, 5  $\mu$ m) dengan fase gerak KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 50 mM (pH 7) dan asetonitril (75:25 %v/v) dengan kecepatan alir 2 ml/menit dan dideteksi pada panjang gelombang 249 nm. Stabilitas kimia kedua obat selama 24 jam dievaluasi dengan membuat campuran larutan injeksi sisplatin 92,42 ppm dan ondansetron HCl 59,15 ppm dalam larutan infus NaCl 0,9 % yang disimpan pada suhu 27 °C dibawah cahaya ruangan normal.

Hasil derivatisasi sisplatin dengan 20 $\mu$ l dietilditiokarbamat 10% pada suhu 90 °C selama 20 menit diekstraksi dengan 2ml kloroform dan dideteksi pada panjang gelombang 344 nm. Metode linier pada kisaran 20 sampai 140 ppm dengan batas deteksi (LOD) 3,606 ppm dan koefisien variasi intra-hari dan inter-hari rata-rata < 2 % pada semua tingkat konsentrasi. Optimasi metode analisis ondansetron hidroklorida diperoleh kurva kalibrasi yang linier pada kisaran 5 sampai 100 ppm dengan batas deteksi (LOD) 3,404 ppm serta presisi intra-hari dan inter-hari dengan koefisien variasi rata-rata  $\leq$  2 % pada semua tingkatan konsentrasi pengujian. Hasil stabilitas kimia campuran kombinasi sisplatin dan ondansetron HCl dalam larutan infus NaCl 0,9%, diketahui sisplatin dan ondansetron HCl stabil selama 4 jam meskipun berkurangnya potensi <10% dari kedua komponen obat. Metode yang dikembangkan selektif dan spesifik untuk

pemisahan dan kuantitasi penetapan sisplatin dan ondansetron HCl dari hasil uraiannya dalam satu campuran sediaan farmasi.

Kata kunci : sisplatin, ondansetron, KCKT, dietilditiokarbamat, stabilitas, derivatisasi.

## Abstract

Name : Armon Fernando  
Study Program : Scient of Pharmacists  
Title : Optimisation determination of cisplatin concentration in mixing infuse solution of cisplatin with ondansetron hydrochloride using diethyldithiocarbamate reagens with high performance liquid chromatography methods.

This research to the optimization analysis methods of the determination of the cisplatin concentrations utilizing high performance liquid chromatography to establishment concentration of cisplatin utilizing reagents diethyldithiocarbamate to increasing it selectivity and sensitivity for ultraviolet detection, because the cisplatin compounds does not have any chromophore functions that can be detected by ultraviolet detector. Determine the concentration ondansetron hydrochloride in the sample we purpose optimize the use of C18 reversed phase column is not common for the determination of ondansetron concentrations. Cisplatin have any side effects strong emetogenic that it can be blocked by ondansetron via inhibitor 5-HT<sub>3</sub> receptors which is very effective for the prevention of nausea and vomiting during cisplatin chemotherapy provided separately through intravenously. Giving antiemetic along with chemotherapy in an expected route of more effective and efficient handling of chemotherapy for cancer. Giving in a route at the same time stability evaluation should be conducted chemical mixture cisplatin and ondansetron hydrochloride in one solution infuse NaCl 0.9% during the 24 hours of cancer chemotherapy.

Cisplatin was analyzed using high performance liquid chromatography through derivatisation with sodium diethyldithiocarbamate reagents in 10% NaOH 0.2 N. Derivate cisplatin-diethyldithiocarbamate was eluted using phase mobile acetonitrile-water (70:30% v/v) with the flow rate 0.8 ml / min on the Knauer ® C18-RP (250 x 4.6 mm, 5µm) column. Ondansetron hydrochloride was analyzed and separated using a Sunfire Waters ® C18-RP (25 cm x 4.6 mm, 5 µm) column with a mobile phase 50 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 7) and acetonitrile (75:25% v/v) with the flow rate 2 ml / min and detected at 249 nm. Chemical stability of both drugs for 24 hours was evaluated by creating a mixture solvent injection cisplatin 92.42 ppm and 59.15 ppm ondansetron HCl solution in 0.9% NaCl infuse was stored at a temperature of 27 °C under normal room light.

Derivatisation results of cisplatin with 20µl diethyldithiocarbamate 10% at a temperature of 90 °C for 20 minutes with 2ml chloroform extracted and detected at 344 nm. Methods was linier over the range 20 to 140 ppm with a limit of detection (LOD) 3.606 ppm and the coefficient of variation intra-day and inter-day average of <2% for all concentration. The ondansetron hydrochloride methods was optimized and validated with the calibration curve was linier over the range of 5 to 100 ppm with a limit of detection (LOD) 3.404 ppm. Precision intra-day and inter-day coefficients of variation average ≤ 2% for all concentration. Chemical stability results of mixture combination of cisplatin and ondansetron HCl in 0.9% NaCl infuse solution, known the cisplatin and ondansetron HCl was stable for 4 hours although loss of their potencies <10%. Methods was developed for specific and selective separation and quantitation



determination of cisplatin and ondansetron HCl from its decomposition in the mixture of pharmaceutical dosage form.

Key words : cisplatin, ondansetron, high performance liquid chromatography, diethyldithiocarbamate, stability, derivatisation.

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iv
<b>ABSTRAK</b> .....	vi
<b>ABSTRACT</b> .....	viii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvi
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Tujuan Penelitian .....	3
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Monografi Sisplatin.....	5
2.1.1 Sifat fisiko kimia .....	5
2.1.2 Stabilitas .....	5
2.1.3 Farmakokinetik .....	6
2.1.4 Farmakologi.....	6
2.2 Monografi Ondansetron .....	9
2.2.1 Sifat fisiko kimia .....	9
2.2.2 Inkompatibilitas .....	10
2.2.3 Farmakokinetik .....	10
2.2.4 Mekanisme kerja framakologi .....	11
2.3 Monografi Dietilditiokarbamat .....	12
2.3.1 Sifat fisiko kimia .....	12
2.3.2 Kegunaan dan reaksi dengan logam .....	12
2.4 Stabilitas dan Kompatibilitas Larutan Obat Parenteral pada Terapi Kanker .....	15
2.5 Derivatisasi pada KCKT .....	16
2.5.1 Derivatisasi pasca kolom (setelah kolom) .....	16
2.5.2 Derivatisasi pre kolom (sebelum kolom) .....	17
2.6 Validasi Metoda Analisis .....	17
2.7 Metoda Analisis Sisplatin dan Ondansetron .....	22
2.7.1 Sisplatin .....	22
2.7.2 Ondansetron .....	24
<b>BAB III. BAHAN, ALAT DAN CARA KERJA</b>	
3.1. Bahan .....	27
3.2. Alat .....	27
3.3. Lokasi .....	27
3.4. Metodologi penelitian.....	27
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1. Metode Analisis sisplatin.....	40
4.2. Metode Analisis ondansetron HCl dihidrat.....	46

4.3. Penentuan uji stabilitas kimia sisplatin dan ondansetron dalam larutan infus NaCl 0,9 % selama 24 jam.....	50
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1. KESIMPULAN .....	54
5.2. SARAN .....	55
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>56</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1 :	Struktur sisplatin (sis-diaminadikloroplatina) .....	5
2 :	Jalur neurotransmisi yang bertanggung jawab pada induksi nual dan muntah oleh kemoterapi.....	7
3 :	Struktur Ondansetron hidroklorida dihidrat .....	9
4 :	Bagian sasaran dari aksi antiemetik dari ondansetron di reseptor 5-HT <sub>3</sub> yang berada di feriferal pada serabut syaraf aferen vagal dalam dinding saluran berpusat di area postrema. .....	11
5 :	Struktur natrium dietilditiokarbamat .....	12
6 :	Reaksi dietilditiokarbamat dengan sisplatin .....	14
7 :	Kromatografi cair kinerja tinggi.....	62
8 :	Spektrum panjang gelombang derivat sisplatin dalam asetonitril-air (75:25 v/v) dan natrium dietilditiokarbamat dalam NaOH 0,2N.....	63
9 :	Pengaruh suhu terhadap pembentukan derivat sisplatin 100ppm dengan 10µl natrium dietilditiokarbamat 10% yang diukur pada λ maks 344 nm.....	64
10 :	Pengaruh waktu terhadap pembentukan derivat sisplatin 100 ppm dengan 10µl natrium dietilditiokarbamat 10% yang diukur pada λ maks 344 nm.....	65
11 :	Pengaruh jumlah dietilditiokarbamat pembentukan derivat sisplatin 100 ppm dengan natrium dietilditiokarbamat 10% yang diukur pada λ maks 344 nm.....	66
12 :	Kromatogram uji selektivitas derivatisasi sisplatin.....	67
13 :	Perbandingan kromatogram derivat sisplatin menggunakan pelarut ekstraksi isoamilalkohol (A) dan kloroform(B).....	68
14 :	Kurva kalibrasi sisplatin dalam larutan NaCl 0,9 %.....	69
15 :	Kurva kestabilan derivat sisplatin hasil reaksi dengan dietilditiokarbamat.....	70
16 :	Spektrum Panjang Gelombang Maksimum Larutan Ondansetron HCl dalam Aquabides.....	71
17 :	Kromatogram uji selektivitas standar ondansetron HCl .....	72
18 :	Kromatogram uji selektivitas sampel injeksi ondansetron HCl.....	73

19 : Kromatogram uji selektivitas sampel injeksi ondansetron HCl dan siplatin .....	74
20 : Kurva kalibrasi ondansetron HCl.....	75
21 : Kurva kestabilan siplatin dalam campuran larutan infus ondansetron HCl .....	76
22 : Kurva kestabilan ondansetron HCl dalam larutan infus NaCl 0,9%.....	77

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1 : Potensi emetogenik relatif zat antineoplastik dan rekomendasi treatment antiemetik.....	8
2 : Data penentuan pengaruh suhu terhadap pembentukan derivat sisplatin 100ppm dengan 10 $\mu$ l natrium dietilditiokarbamat 10% yang diukur pada $\lambda$ maks 344 nm....	78
3 : Data penentuan pengaruh waktu terhadap pembentukan derivat sisplatin 100 ppm dengan 10 $\mu$ l natrium dietilditiokarbamat 10% yang diukur pada $\lambda$ maks 344 nm ..	79
4 : Data penentuan pengaruh jumlah dietilditiokarbamat terhadap pembentukan derivat sisplatin 100 ppm dengan natrium dietilditiokarbamat 10% yang diukur pada $\lambda$ maks 344 nm. ....	80
5 : Optimasi komposisi fase gerak asetonitril-air dengan kecepatan alir 1 ml/menit untuk analisis derivat sisplatin-dedtc pada panjang gelombang 344 nm.....	81
6 : Optimasi kecepatan alir fase gerak (asetonitril-air; 70:30 v/v) untuk analisis derivat sisplatin-DEDTC pada Panjang Gelombang 344 nm.....	82
7 : Data efisiensi pelarut ekstraksi isoamilalkohol dan kloroform sisplatin 40 ppm. ....	83
8 : Kurva kalibrasi sisplatin.....	84
9 : Presisi dan akurasi sisplatin (intra-hari).....	85
10 : Presisi dan akurasi sisplatin (inter-hari).....	86
11 : Hasil uji perolehan kembali sisplatin. ....	89
12 : Data stabilitas derivat sisplatin 92,42 ppm hasil reaksi dengan dietilditiokarbamat. ....	90
13 : Optimasi komposisi fase gerak KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0,02 M pH 7 – asetonitril dengan kecepatan alir 2 ml/menit pada panjang gelombang 249 nm.....	91
14 : Optimasi kecepatan alir dengan fase gerak KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0,02 M pH 7 – asetonitril (75 : 25 v/v) dengan variasi kecepatan alir pada panjang gelombang 249 nm. ....	92
15 : Optimasi kekuatan dapar fase gerak.....	93
16 : Kurva kalibrasi ondansetron HCl. ....	94
17 : Presisi dan akurasi ondansetron HCl (intra-hari).....	95
18 : Presisi dan akurasi ondansetron HCl (inter-hari). ....	96
19 : Hasil uji perolehan kembali ondansetron HCl. ....	99

20 : Hasil aplikasi kontrol sisplatin 92,42 ppm dalam larutan infus NaCl 0,9%. .....	100
21 : Data kestabilan campuran sisplatin dan ondansetron HCl 50mg/541ml. ....	101
22 : Data kestabilan ondansetron HCl 59,15 ppm dalam larutan infus NaCl 0,9% .....	102
23 : Data kestabilan campuran ondansetron HCl dan sisplatin 32mg/541ml. ....	103

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 : Cara memperoleh regresi linier dari persamaan garis. ....	104
2 : Perhitungan linieritas dan batas kuantitasi (LOQ) dan batas deteksi (LOD). ....	105
3 : Cara perhitungan simpangan baku. ....	107
4 : Sertifikat analisis sisplatin.....	108
5 : Sertifikat analisis natrium dietilditiokarbamat. ....	109
6 : Sertifikat analisis ondansetron HCl .....	110



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Obat sitostatika yang banyak digunakan sebagai antikanker salah satunya berasal dari golongan platina seperti sisplatin dan turunannya yang mempunyai efek emetogenik kuat sebagai efek samping utamanya. Lebih dari 90% pasien yang menerima  $\geq 50 \text{ mg/m}^2$  sisplatin intravena akan mengalami mual dan muntah selama 24 jam pertama setelah pemberian. Efek tersebut diakibatkan oleh rangsangan lokal gastrointestinal dengan mekanisme sentral, biasanya mulai pada 1 dan 6 (pada umumnya 2 sampai 3) jam setelah pemberian sisplatin (Mcevoy GK, 2002; Tanihata, Hiroaki, Masami dan Toshimitsu, 2000).

Secara fisiologis, sisplatin merangsang pelepasan serotonin dengan menginduksi reseptor serotonin 5-HT<sub>3</sub> pada daerah pencetus kemoreseptor (CTZ : *chemoreceptor trigger zone*) yang dapat menginduksi mual dan muntah. Obat antagonis serotonin yang banyak digunakan saat ini adalah ondansetron hidroklorida yang sangat efektif pada pengendalian mual dan muntah pada berbagai situasi klinis. Penggunaan ondansetron dan inhibitor reseptor 5-HT<sub>3</sub> lainnya sangat efektif diberikan melalui intravena dan aman untuk pencegahan mual dan muntah yang diinduksi oleh emetogenik kuat dari kemoterapi terutama golongan platina (Schnell, 2003; Castejon, Paez, Hernandez, dan Cubeddu, 1999; Olver. *et al.* 1996).

Pasien kanker juga memerlukan banyak pemberian obat-obatan secara intravena selain obat sitostatika itu sendiri. Pemberian obat secara intravena selama kemoterapi berisiko terhadap hancurnya sel endotelia kardiovaskular dan jaringan kulit disekitar daerah penyuntikan. Akibat kerja obat kemoterapi yang menghambat regenerasi sel jaringan sehingga memungkinkan masuknya sumber infeksi. Dengan adanya efek samping dan faktor resiko yang merugikan tersebut dapat menimbulkan masalah dalam pengobatan pasien kanker, sehingga akan mengurangi mutu pengobatan dan akan mengakibatkan keengganan pasien untuk melanjutkan perawatan yang intensif (Mcevoy GK, 2002).

Ondansetron biasanya diberikan secara intravena 30 menit sampai 1 jam sebelum pemberian obat kemoterapi, tetapi bisa juga dikombinasi langsung

dengan sisplatin dalam infus intravena. Pemberian kombinasi dalam larutan infus diharapkan lebih efisien dan terkawalnya efek emesis sisplatin dari waktu ke waktu, tetapi harus diperhatikan juga apakah ada interaksi secara fisika dan kimia agar kadar sisplatin dan ondansetron tidak berkurang secara signifikan antar keduanya sehingga pengobatan tetap optimal.

Pengujian stabilitas ondansetron hidroklorida dalam larutan injeksi dan infus NaCl 0,9 %, ringer laktat dan dekstrosa 5 % dengan kondisi penyimpanan pada suhu 25 °C selama 48 jam terjadi penurunan kadar ondansetron hidroklorida <90 % dari kadar awalnya (Bosso, Prince dan Fox, 1992). Ondansetron kompatibel dengan beberapa obat antineoplastik kuat (sitarabin, dakarbazin, doksorubisin, etoposida atau metotreksat) dalam kantong infus PVC selama 48 jam pada suhu kamar. Sedangkan sisplatin relatif stabil dalam larutan NaCl 0,9 % selama 24 jam meskipun terjadi penurunan kadar sebesar 3 % selama kurang dari 1 jam pada suhu kamar. Sisplatin terurai menjadi sis-aminatrikloroplatina dalam larutan NaCl 0,9 % yang dipengaruhi oleh pH dan dapat juga membentuk isomer transplatin bila terpapar oleh cahaya dengan intensitas tinggi (Sweetman, 2005). Stabilitas kombinasi sisplatin dengan palonosetron hidroklorida menurunkan kadar sisplatin sebesar 5 % dari kadar awal selama 4 jam (Trissel dan Yanping, 2004).

Penetapan kadar ondansetron menggunakan metode yang serupa dilakukan menggunakan kolom dengan struktur nitril, karbon berpori dan silika sebagai fase diam dan campuran pelarut polar sebagai fase gerak. Waktu retensi yang dihasilkan menggunakan kolom nitril, karbon berpori relatif kecil rata-rata 1 sampai 3 menit. Metode dengan waktu retensi yang kecil banyak digunakan untuk penetapan kemurnian dan kadar ondansetron dalam bentuk tunggal (Canada JR, 2005; Komatsu. *et al*, 2006; Xiaohui, Michael, Bartlett dan Stewart, 2008; Chdanrasekar, Ramakrishna dan Diwan, 2004). Metode dengan waktu retensi yang relatif panjang memungkinkan untuk memisahkan campuran ondansetron dengan obat lain beserta produk uraiannya dan memudahkan pengerjaan analisis. Penetapan kadar ondansetron menggunakan kolom C<sub>18</sub> yang sudah dilakukan oleh peneliti sebelumnya menggunakan detektor ultraviolet (Kupiec, Kostuck dan Vu, 9 Agustus 2008; Sutariya dan Mashru, 9 Agustus 2008).

Penetapan kadar sisplatin yang pernah dilakukan menggunakan spektrometri ionisasi elektrospai-spektrometer massa (ESI-MS) dan kromatografi cair kinerja tinggi dengan detektor spektrometer massa dan spektrofotometer serapan atom (Kayoko, Hideki, Naoko dan Osamu, 2006; Andrews, Wung, dan Howell, 1984; Raghavan, Burchett, Loffredo, dan Mulligan, 2000).

Senyawa sisplatin tidak mempunyai gugus kromofor yang dapat terdeteksi oleh detektor ultraviolet, sehingga perlu dilakukan derivatisasi sisplatin pre kolom dengan pereaksi yang dapat memberikan gugus kromofor supaya dapat menyerap sinar pada daerah UV. Senyawa dietilditiokarbamat banyak digunakan sebagai pereaksi pengkomplek yang dapat memberikan gugus kromofor pada pemeriksaan logam berat seperti platina. Kompleks turunan platina-dietilditiokarbamat dapat meningkatkan selektifitas dan sensitifitas penetapan kadar sisplatin dalam larutan dan plasma karena dietilditiokarbamat tidak bereaksi dengan produk uraian dari sisplatin. Komplek platina-dietilditiokarbamat membentuk endapan dalam pelarut polar sehingga perlu diekstraksi dengan pelarut organik yang sesuai seperti kloroform atau isoamilalkohol sebelum dianalisis dengan kromatografi cair kinerja tinggi (Raghavan, Burchett, Loffredo dan Mulligan, 2000; Pernilla, Laurell, Wallin dan Ehrsson, 2006; Gonias, Oakley, Walther dan Pizzo, 1984).

Pada penelitian ini dilakukan optimasi metode penetapan kadar sisplatin menggunakan pereaksi dietilditiokarbamat untuk meningkatkan selektifitas dan sensitifitas penetapan kadar senyawa sisplatin dalam larutan secara kromatografi cair kinerja tinggi-detektor uv-vis, serta optimasi penggunaan kolom fase terbalik C<sub>18</sub> yang belum umum untuk penetapan kadar ondansetron hidroklorida dalam sampel. Metode analisis ini diaplikasikan pada uji stabilitas kimia campuran sisplatin dan ondansetron hidroklorida dalam larutan infus NaCl 0,9 % selama 24 jam sesuai dengan simulasi kemoterapi kanker.

## **1.2. Tujuan Penelitian**

1. Memperoleh metode analisis yang optimal untuk penetapan kadar sisplatin yang diderivatisasi dengan natrium dietilditiokarbamat menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi detektor UV.

2. Optimasi penetapan kadar ondansetron hidroklorida secara kromatografi cair kinerja tinggi menggunakan kolom C<sub>18</sub>.
3. Mengevaluasi stabilitas kimia kombinasi sisplatin dan ondansetron dalam larutan infus NaCl 0,9% selama 24 jam.

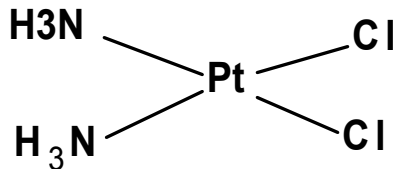
## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Monografi Sisplatin

##### 2.1.1. Sifat fisiko-kimia

Struktur kimia sisplatin adalah sebagai berikut (Sweetman , 2005):



Gambar 1. Struktur sisplatin (sis-diaminadikloroplatina) (Sweetman , 2005).

Sinonim : CDDP, neoplatin, platinol, cis-DDP

Rumus molekul  $\text{Cl}_2\text{N}_2\text{H}_6\text{Pt}$  atau  $\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2$  ; berat molekul : 300,1

Pemerian sisplatin adalah berupa kristal padat berwarna kuning dan bersih (larutan rekonstitusi) dengan titik leleh  $270^\circ\text{C}$ . Memiliki kelarutan yang berbeda – beda dalam tiap larutan, seperti :

- larut dalam air, < 1 mg/mL pada suhu  $19^\circ\text{C}$  (2,53 mg/mL pada  $25^\circ\text{C}$ ).
- 1 mg/mL larut dalam NaCl 0,9 %.
- < 1 mg/mL larut dalam etanol 95 % pada suhu  $19^\circ\text{C}$ .
- < 1 mg/mL larut dalam aseton pada suhu  $19^\circ\text{C}$ .
- $\geq 100$  mg/mL larut dalam dimetil sulfoksida (DMSO) pada suhu  $19^\circ\text{C}$ .
- > 2 mg/mL larut dalam N,N-dimetilformamida (DMF).

##### 2.1.2. Stabilitas

Senyawa sisplatin tidak kompatibel dengan zat pengoksidasi dan aluminium. Sisplatin bereaksi dengan aluminium dan menyebabkan inaktivasi sisplatin secara permanen. Sisplatin juga bereaksi dengan natrium bisulfit dan antioksidan lainnya (<http://www.mrc-lmb.cam.ac.uk>. 9 Agustus 2008). Larutan sisplatin dalam air berubah menjadi trans-isomernya secara perlahan. Ligand Cl disubstitusi dengan ligand  $\text{H}_2\text{O}$ , menghasilkan kompleks diaqua dengan waktu paruh sekitar 5 jam pada suhu  $30^\circ\text{C}$ , pH 7. Stabilitas sisplatin dalam larutan air meningkat dengan penambahan natrium klorida (NaCl) konsentrasi 0.9 % dan terpengaruh oleh larutan alkalin seperti larutan natrium bikarbonat. Larutan

sisplatin dalam NaCl 0.9 % stabil selama 24 jam (setelah kehilangan sebanyak 3 % selama kurang dari satu jam) pada temperatur kamar terlindung dari cahaya. pH stabilitas larutan injeksi sisplatin 3,5-6,2 (Sigma-Aldrich. Inc. 9 Agustus 2008).

### 2.1.3. Farmakokinetik

Sisplatin didistribusikan melalui IV secara cepat ke dalam jaringan, dengan konsentrasi tinggi pada ginjal, hati, ovarium, uterus dan paru – paru. Memiliki ikatan protein >90% sekitar 2 sampai 4 jam, metabolismenya bersifat nonenzimatik, tidak aktif dalam sel ataupun cairan darah dengan adanya gugus sulfidril, berikatan kovalen dengan glutation dan tiosulfat (Mok, *et al*, 2001).

Ekskresi utamanya melalui urin tetapi tidak secara keseluruhan dan berlanjut sampai lebih dari 5 hari sebesar 50 % dosis, dan platina masih terdeteksi setelah 30 hari pemberian. Sisplatin yang tidak terikat protein diekskresikan secara cepat melalui tubula ginjal (Sweetman, 2005).

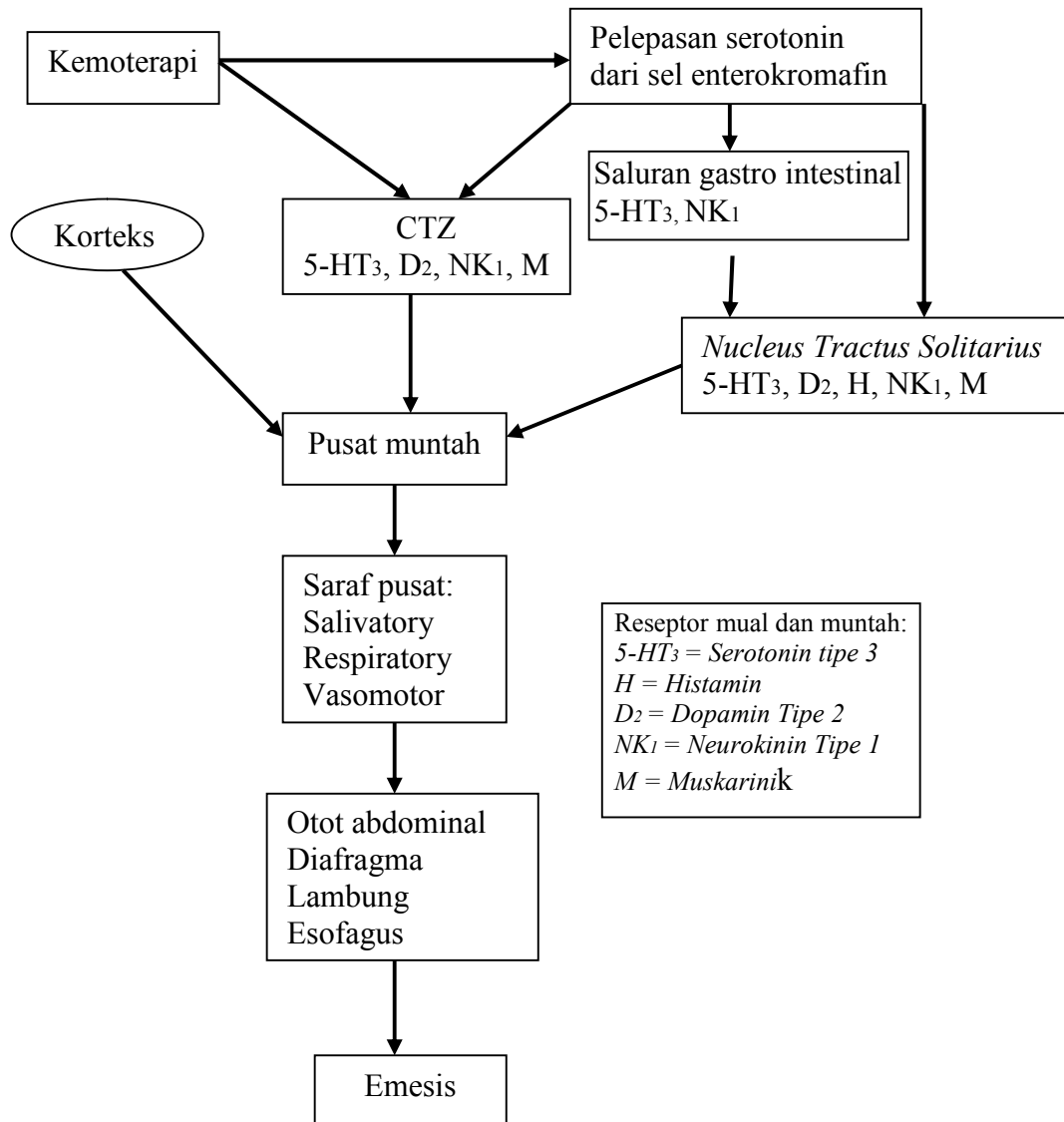
### 2.1.4. Farmakologi

Sisplatin mengandung platina dengan aktivitas neoplastik yang luas dan agen alkilasi yang efektif melawan tumor ganas pada testis, ovarium dan ginjal, malignasi epitel, kanker esophagus, paru-paru, kepala dan leher. Sisplatin juga efektif melawan sarkoma dan leukemia pada tikus. Sisplatin memasuki sel melalui difusi, ion kloridanya digantikan dengan air yang aktif, menjadi ion yang positif sehingga bisa bereaksi dengan DNA ke bentuk intra (antara atom N<sub>7</sub> yang berpasangan) dan *interstrand crosslinks* yang menghambat replikasi DNA (Sigma-Aldrich. Inc. 9 Agustus 2008; Smith, pada 9 Agustus, 2008; Takahara, Patricia, Frederik, Christin dan Lippard, 1996:).

Ikatan sisplatin (12,5 mM) ke gugus sulfidril bebas dalam tubulin dan menyebabkan depolimerisasi parsial dari mikrotubula dan akan mengubah kandungan mikrotubuli oleh modifikasi tubula langsung dan menyebabkan perubahan dalam pola sitoskeletal pada sel tumor (Malina, Hofr, Maresca, Natile, dan Brabec, 2000; Huang, Woo, Jinsuk., Ally, Stephen dan Hopkins, 1995; Scheeff, Briggs, dan Howell, 1999).

Sisplatin dan obat kemoterapi lainnya menstimulasi pelepasan serotonin-3 saraf vagal reseptor serotonin (5-HT<sub>3</sub>) yang terdapat pada saluran cerna, nukleus

traktus solitarius di medula oblongata, dan *chemoreceptor trigger zone* (CTZ). CTZ terletak di luar barier darah otak dan mengirim impuls pada pusat muntah ketika distimulasi oleh unsur emetogenik sisplatin sampai ambang batas tercapai pada pusat muntah, impuls saraf dibawa oleh saraf aferen pada rangsangan emesis (lihat gambar 2).



Gambar 2. Jalur neurotransmisi yang bertanggung jawab pada induksi mual dan muntah oleh kemoterapi. (ASHP, 1999)

Kemampuan zat kemoterapi untuk menghasilkan emesis pada pasien dipengaruhi oleh tipe zat, dosis, dan kecepatan infus. Hal ini penting untuk mempertimbangkan pemberian masing-masing zat kemoterapi yang punya sifat

emetogenik berbeda. Klasifikasi kemampuan emetogenik zat kemoterapi pada table 1.

Tabel 1. Potensi emetogenik relatif zat antineoplastik dan rekomendasi treatment antiemetik.

Kategori emetogenik	Zat kemoterapi	Rekomendasi treatment antiemetik
<b>Level 5</b> sangat tinggi >90% kejadian	Carmustine > 250 mg/m <sup>2</sup> Cisplatin > 50 mg/m <sup>2</sup> Cyclophosphamide > 1500 mg/m <sup>2</sup> Dacarbazine Lomustine > 100 mg/m <sup>2</sup> Mechlorethamine Melphalan > 100 mg/m <sup>2</sup> Nitrogen mustard Pentostatin Steptozocin Thiotepa > 100 mg/m <sup>2</sup>	<b>Pre-treatment:</b> Antagonis reseptor serotonin: - Ondansetron 8 mg PO atau IV - Granisetron 2 mg PO atau 1mg IV - Dolsetron 100-200mg PO atau 100 mg IV Tambah kortikosteroid: - Dexamethason 8 mg PO atau IV- dapat di tingkatkan sampai 20 mg untuk regimen sisplatin. - Lorazepam 1-2 mg PO sebelum kemoterapi.
<b>Level 4</b> Tinggi 60%-90% kejadian	Carboplatin Carmustine < 250 mg/m <sup>2</sup> Cisplatin < 50 mg/m <sup>2</sup> Cyclophosphamide > 750 mg/m <sup>2</sup> < 1,5 mg/m <sup>2</sup> Cytarabine > 1000 mg/m <sup>2</sup> Dactinomycin Doxorubicin > 60 mg/m <sup>2</sup> Methotrexate >1000 mg/m <sup>2</sup> Mitoxantrone < 15 mg/m <sup>2</sup> Procarbazine (oral)	<b>Post-treatment:</b> Oral kortikosteroid : - Dexamethason 8 mg selama 24 jam untuk 3 hari, atau 4 hari dengan pemberian sisplatin. tambah Antagonis reseptor serotonin : - Ondansetron 8 mg selama 24 jam untuk 3 dosis. - Granisetron 1 mg selama 24h untuk 1 dosis. - Dolasetron 100 mg selama 24 jam untuk 1 dosis.
<b>Level 3</b> Moderat 30%-60% kejadian	aldesleukin Cyclophosphamide < 750 mg/m <sup>2</sup> Doxorubicin 20-60 mg/m <sup>2</sup> Epirubicin < 90 mg/m <sup>2</sup> Idarubicin Ifosfamide Irinotecan Methenamine ( oral ) Methotrexate 250-1000 mg/m <sup>2</sup>	Atau ditambah - Oral Metoclopramide (10-20 mg setiap 4-6 jam untuk 2 sampai 3 hari. Atau ditambah antagonis reseptor dopamin - Prochlorperazine 10 mg PO setiap 4-6jam
<b>Level 2</b> Rendah 10%-30% kejadian	Asparaginase Cytarabine < 1g/ m <sup>2</sup> Docetaxel Etoposide 5-Flurouracil <1000 mg/m <sup>2</sup> gemcitabine methotrexate >50 mg/m <sup>2</sup> < 250mg/m <sup>2</sup> mitomycin paclitaxel	<b>Pre-treatment:</b> Kortikosteroid : - Oral Dexamethason 4-8 mg sebelum dosis kemoterapi.  <b>Post-treatment:</b> Tidak ada pencegahan menggunakan antiemetik untuk emesis susulan.



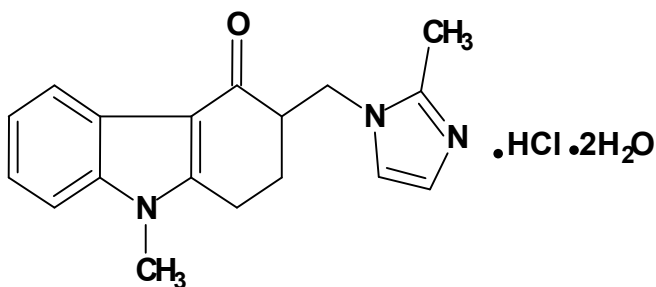
	teniposide thiotepa topotecan	Memungkinkan pemberian antagonis dopamin sebelum atau sesudah kemoterapi. (Prochlorperazine 10 mg PO selama 4-6 jam. Atau Metoclopramide 10-20 mg PO selama 4-6 jam)
<b>Level 1</b> Sangat rendah <10% kejadian	Androgens bleomycin Busulfan Chlorambucil (oral) cladribine fludarabine hydroxyurea interferon melphalan ( oral ) mercaptopurine methotrexate < 50mg/m2 thioguanine (oral) tretinoin  vinblastine vincristine vinorelbine	Pre-treatment: tidak ada antiemetik pre-treatment rutin.  Post-treatment: Tidak ada pencegahan menggunakan antiemetik untuk emesis susulan

(National Comprehensive Cancer Network & American Cancer Society, 2005)

## 2.2. Monografi Ondansetron

### 2.2.1. Sifat fisika-kimia

Struktur kimia ondansetron hidroklorida dihidrat adalah sebagai berikut :



Gambar 3. Struktur Ondansetron hidroklorida dihidrat (Sweetman , 2005)

Nama kimia : Ondansetron hidroklorida dihidrat : 1,2,3,9-tetrahydro-9-metil-3-[(2-metil-1H-imidazol-1-il)metil]-4H-karbazol-4-on, hidroklorida dihidrat. Rumus molekul : C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O.HCl.2H<sub>2</sub>O, massa molekul relatif = 365,9.

Pemerian ondansetron hidroklorida dihidrat berupa serbuk putih atau hampir putih, titik didih 177°C. Mudah larut dalam air dan alkohol, larut dalam metanol dan larut sebagian dalam metilenklorida. Larut dalam NaCl fisiologis

sampai sekitar 8mg/ml. pKa ondansetron hidroklorida dihidrat adalah 7,4, koefisien distribusi antara *n*-oktanol dan air tergantung pH dengan  $\log D = 2,2$  pada pH 10,6 dan  $\log D = 0,6$  pada pH 5,95.

### 2.2.2. Inkompatibilitas

Ondansetron hidroklorida dan deksametason sodium fosfat tidak kompak ketika konsentrasi tinggi digabung dalam *syringe* polipropilen. Konsentrasi rendah (sampai 640  $\mu$ gram/ml ondansetron dan 400  $\mu$ gram/ml deksametason fosfat) stabil dalam 50 ml penyimpanan cairan infus selama 30 hari dibawah refrigerasi. Kompatibilitas dilaporkan untuk 24 jam dalam *syringe* plastik pada suhu 4° atau 23°C dengan beberapa obat antineoplastik kuat (sitarabin, dakarbazin, doksorubisin, etoposida atau metotreksat) dalam kantong infus PVC selama 48 jam pada suhu kamar. pH stabilitas larutan injeksi ondansetron hidroklorida 3,3 sampai 4 (Sweetman, 2005).

### 2.2.3. Farmakokinetik

Ondansetron diabsorpsi baik setelah pemberian oral dan diserap dalam jumlah terbatas pada metabolisme lintas pertama. Jangka waktu dan kecepatan absorpsi ondansetron mengikuti dosis oral tunggal yang lebih besar jumlahnya pada wanita dibandingkan pria. Kemampuan bioavailibilitasnya terhadap orang yang sehat, mengikuti dosis oral 8 mg kira-kira sebanyak 56 % (Tyers, 1992).

Volume distribusi ( $Vol_D$ ) pada pria muda sehat yang diberi 8 mg ondansetron melalui infus intravena selama 5 menit sebanyak 160 L. Pasien dengan umur 4–12 tahun dilaporkan mempunyai  $Vol_D$  yang lebih besar dibandingkan pasien dewasa. Distribusi ondansetron ke dalam eritrosit sebanyak 30%, sebagian terikat dengan protein sebanyak 70-76%. Menyebar ke hati dan berhidroksilasi primer dan selanjutnya terkonyugasi oleh sulfat dan glukoronida (Mcevoy GK, 2002).

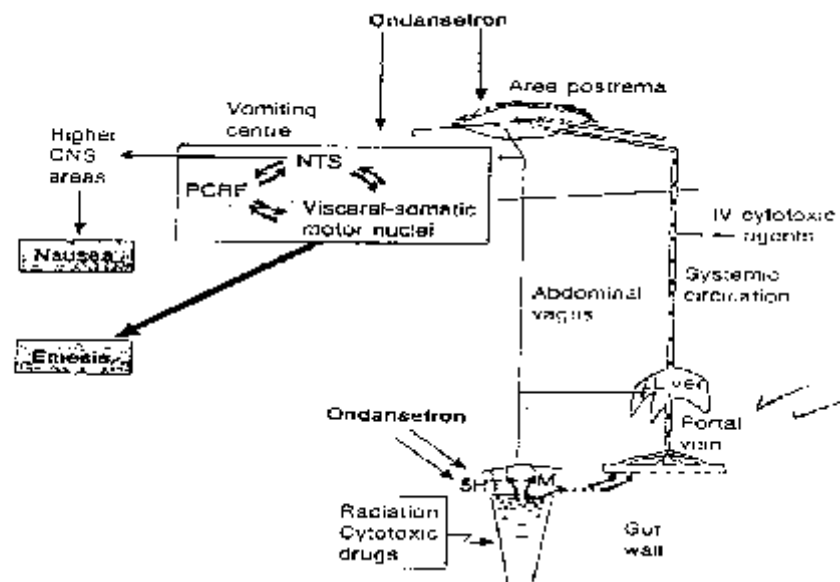
Eliminasi  $T_{1/2}$  pada pasien kanker dewasa selama 5,7 jam, pasien yang lebih tua cenderung meningkat eliminasi  $T_{1/2}$  nya. Pemberian ondansetron dosis tunggal 4 mg secara IV dan injeksi IM menunjukkan bahwa eliminasi  $T_{1/2}$  yang tidak dipengaruhi rute administrasi (Leeser dan Lip, 1991)

Konsentrasi puncak plasma yang tinggi tercapai melalui infus IV 5 menit atau injeksi IM dosis tunggal 42,9 ngram/ml pada 10 menit selama infus dan 31,9

ngram/ml pada 41 menit setelah injeksi IM. Eliminasi dominan terjadi di hati, kurang dari 5 % ondansetron diekskresikan dalam urin pada pemberian secara IV (Mcevoy GK, 2002; Tyers, 1992).

#### 2.2.4. Mekanisme kerja farmakologi

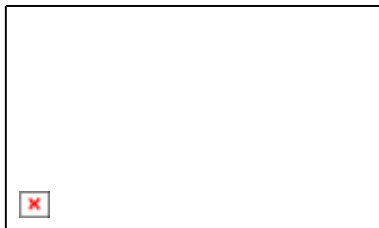
Ondansetron hidroklorida, selektif menghambat reseptor serotonin 5-HT<sub>3</sub> sebagai antiemetik. Aktifitas antiemetik ondansetron dimediasi secara sentral dan periferal melalui penghambatan reseptor 5-HT<sub>3</sub>. Reseptor 5-HT<sub>3</sub> memegang peranan penting dalam mengatur muntah akut. Ondansetron mencegah atau memperbaiki muntah akut yang dipengaruhi oleh kemoterapi dengan menghambat stimulasi viseral aferen pusat muntah mungkin secara tidak langsung pada taraf area postrema dan dengan langsung menghambat aktifitas serotonin dalam area postrema dan daerah kemoreseptor pencetus (CTZ) yaitu tepat berada di periferal pada serabut syaraf aferen vagal dalam dinding saluran berpusat di area postrema, inti sel traktus solitarius (NTS) dan tersebar didaerah lain di otak ; M= mediator kimia lain; PCRF = pembentukan susunan sel retikular (Andrews. *et al.* 1988; Pratt. *et al.* 1990). Seperti terlihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 4. Bagian sasaran dari aksi antiemetik ondansetron pada reseptor 5-HT<sub>3</sub> (Andrews. *et al.* 1988; Pratt. *et al.* 1990).

## 2.3 Monografi Dietilditiokarbamat

### 2.3.1 Sifat fisiko-kimia



Gambar 5. Struktur Natrium dietilditiokarbamat (Wikipedia, 6 Juni 2008).

Sinonim : Natrium dietilditiokarbamat garam trihidrat; asam karbamoditioat, ditiokarb. Senyawa ini memiliki rumus molekul :  $C_5H_{10}NS_2Na$  (anhidrat),  $C_5H_{10}NS_2Na \cdot 3H_2O$ , massa molar sebesar 171,259 g/mol (anhidrat) dengan berat jenis 1,1 g/cm<sup>3</sup> dan berat molekulnya 225,3. Titik lelehnya mencapai 95 °C, kelarutan : sangat mudah larut dalam air, larutan basa. Biasanya dikenali dengan pemerian berbentuk serbuk putih atau sedikit coklat atau kristal agak merah muda dengan bau seperti ikan, dapat didekomposisi dalam jumlah banyak di udara, bisa didekomposisi ke bentuk karbon disulfida dan dietilamina dalam asam (Sigma Aldrich, 9 Agustus 2008; Wikipedia, 6 Juni 2008).

Kestabilannya berada dibawah kondisi penggunaan dan penyimpanan biasa. Adisi dengan asam pada larutan air membentuk kekeruhan putih yang berliberasi ke karbon disulfida. Penyimpanan dalam wadah yang tertutup rapat, di tempat sejuk, kering, daerah berventilasi, dan terlindung dari kerusakan fisik (Sigma Aldrich. 9 Agustus 2008; Wikipedia, 6 Juni 2008; Leikin dan Paloucek, 1997).

### 2.3.2 Kegunaan dan Reaksi dengan logam

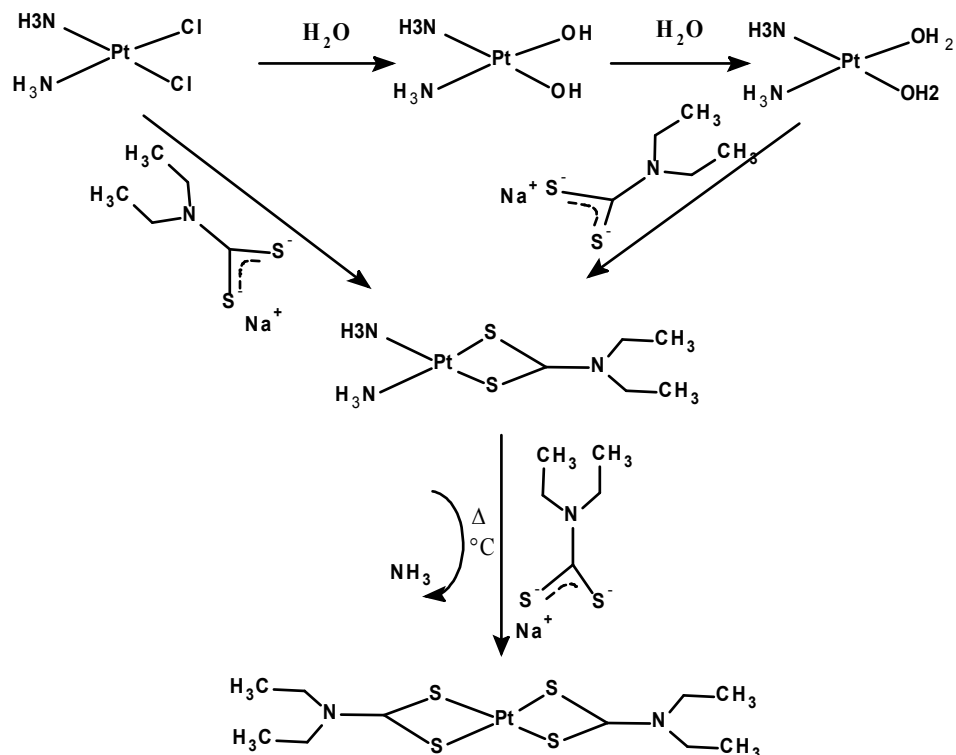
Dietilditiokarbamat digunakan sebagai antidotum logam dan agen pengkelat logam pada cemaran logam air limbah. Senyawa dietilditiokarbamat digunakan sebagai pereaksi pengkomplek senyawa logam dan dimanfaatkan untuk analisis logam dan senyawa logam yang pada umumnya tidak mempunyai gugus kromofor seperti halnya senyawa sisplatin. Reaksi dietilditiokarbamat dengan logam membentuk kompleks logam-dietilditiokarbamat yang tidak larut dalam pelarut polar, tapi dapat larut dalam pelarut non polar (Leikin dan Paloucek, 1997; Edwin, Lempers dan Reedijk, 1990).

Senyawa dietilditiokarbamat dapat memberikan serapan pada daerah ultraviolet dengan senyawa kompleks logam karena memiliki elektron  $\pi$  utama dari ikatan S-C-S dan C=N yang tereksitasi menjadi elektron  $\pi^*$  anti ikatan akibat resonansi elektron sunyi dari atom nitrogen sehingga dapat dianalisis secara spektropotometri (Videhult, Laurell, Wallin, dan Ehrsson, 2006; Lempers, dan Reedijk, 1990; Borch, 1984).

Reaksi dietilditiokarbamat dengan logam platina (sisplatin) berlangsung melalui pembentukan kompleks sis-diaminodiaquaplatinat atau secara langsung substitusi sepasang atom sulfur nukleofil dietilditiokarbamat menggantikan sepasang ligan halida atau diaqua dari sisplatin membentuk kompleks intermediet dengan koordinat yang masih labil. Sepasang ligan amina yang terikat kuat dengan platina dapat dilepaskan oleh sepasang atom sulfur dari dietilditiokarbamat membentuk ikatan yang lebih kuat dan lebih stabil daripada ikatan amina pada platina. Kekuatan ikatan atom sulfur ini kemungkinan diakibatkan oleh elektron sunyi dari atom amino nitrogen pada struktur dietilditiokarbamat. Reaksi ini sangat dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti (Videhult, Laurell, Wallin, dan Ehrsson, 2006; Borch, 1984):

- pH, reaksi dietilditiokarbamat dilakukan pada pH 5-11, hasil reaksi meningkat dan makin stabil seiring meningkatnya pH. Dietilditiokarbamat pada pH asam mudah terurai menjadi karbon disulfida, dietil amina dan hidrogen sulfida. pH ditingkatkan dengan natrium hidroksida, amonium hidroksida dan dapar tris.
- Pelarut, senyawa dietilditiokarbamat larut dalam pelarut polar seperti air dan natrium hidroksida yang memudahkan pembentukan ion dietilditiokarbamat yang reaktif untuk bereaksi membentuk kompleks logam. Pelarut organik non polar seperti kloroform, metilen klorida dan asetonitril dapat bereaksi dengan dietilditiokarbamat membentuk kompleks pelarut-dietilditiokarbamat, walaupun reaksinya lambat akan mengurangi kecepatan reaksi dan jumlah pembentukan produk kompleks logam-dietilditiokarbamat.
- Jumlah dietilditiokarbamat yang bereaksi dengan senyawa logam mempengaruhi intensitas serapan UV. Biasanya jumlah dietilditiokarbamat yang ditambahkan lebih dari 100 kali jumlah senyawa logam dan tergantung dari konsentrasi dietilditiokarbamat yang digunakan untuk reaksi.

- Suhu, semakin tinggi suhu akan mempercepat laju reaksi pembentukan kompleks derivat dietilditiokarbamat dengan catatan dibawah titik leleh dari masing-masing zat yang bereaksi. Suhu yang digunakan untuk mempercepat reaksi ini juga dipengaruhi oleh jumlah dietilditiokarbamat, makin banyak jumlah dietilditiokarbamat yang digunakan maka suhu yang digunakan tidak terlalu tinggi.
- Waktu, diperlukan waktu tertentu untuk membentuk kompleks derivat logam-dietilditiokarbamat yang maksimal. Waktu yang dibutuhkan untuk hasil derivat maksimal tergantung jumlah dietilditiokarbamat dan suhu yang digunakan.



Gambar. 6. Reaksi dietildithiokarbamat dengan sisplatin  
(Videhult, Laurell, Wallin, dan Ehrsson, 2006; Borch, 1984).

Derivat logam-dietilditiokarbamat pada umumnya diekstraksi dari sampel dengan pelarut organik non polar seperti isoamil alkohol, kloroform dan metilen klorida, kemudian dievaporasi sebelum dianalisis. Analisis derivat logam-dietilditiokarbamat dapat dilakukan dengan kromatografi cair kinerja tinggi

menggunakan kolom fase terbalik. Larutan pengelusi yang umum digunakan adalah campuran air-asetonitril, metanol-air dan asam suksinat-metanol.

#### **2.4 Stabilitas dan kompatibilitas larutan obat parenteral pada terapi kanker**

Pemberian campuran kombinasi larutan parenteral secara umum tidak dianjurkan, karena berpotensi menjadi tidak kompatibel dan menyebabkan berkurangnya aktifitas salah satu atau semua bahan obat yang dicampur. Bagaimanapun pada beberapa keadaan dan alasan-alasan tertentu memungkinkan untuk mencampur dua atau lebih larutan obat parenteral dalam satu kantong infus yang sama (Williams, 1996; Murney, 2008).

Pemberian kemoterapi secara infus yang penggunaannya semakin meningkat terutama obat dengan waktu paruh yang relatif singkat dapat diberikan melalui bolus untuk meningkatkan ketersediaan hayati obat setiap waktu sehingga efek antikankernya lebih maksimal. Aplikasi kemoterapi secara infus membutuhkan kestabilan obat kanker itu sendiri dalam larutan pada suhu kamar dan dengan adanya obat lain seperti antiemetik dapat menjadi kompatibel. Kapasitas campuran obat antikanker dengan antiemetik dalam satu larutan infus kombinasi kemoterapi pada satu lokasi pemberian memberikan keuntungan pada penanganan kemoterapi bagi kenyamanan pasien. Bagaimanapun pemberian campuran kombinasi memberikan metode yang optimal untuk penghantaran multi obat kemoterapi dalam pengaturan pada penghantaran obat secara infus yang kontinu selama 24 jam. Kemoterapi secara infus yang kontinu untuk memastikan penghantaran obat sitotoksik dan kombinasinya tidak berubah, perlu dihindari pada keadaan yang dapat mempengaruhi kestabilan campuran infus (Williams, 1996; Murney, 2008).

Penelitian kompatibilitas campuran obat parenteral dilakukan dengan melihat pengendapan, buih, perubahan warna dan cara visual lainnya sebagai kriteria kompatibilitas campuran larutan obat. Pengujian kompatibilitas campuran larutan parenteral dilakukan dengan melihat perubahan potensi atau kestabilan kimia dari campuran obat. Perubahan ini tidak dapat diamati secara visual. Kestabilan dalam campuran atau produk dari obat tidak kurang dari 90 % dari potensi aslinya selama pemberian campuran. Batas ketidakstabilan secara kimia

dalam campuran jika hilangnya potensi lebih dari 10 % dari konsentrasi asli salah satu atau beberapa komponen campuran obat. Kombinasi larutan parenteral yang tidak kompatibel secara kimia tidak boleh diberikan, untuk itu perlu diperhatikan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kestabilan dan kompatibilitas dari komponen campuran, seperti pH stabilitas, kelarutan, pengaruh cahaya dan suhu ruangan perlakuan (Williams, 1996; Murney, 2008).

## **2.5 Derivatisasi pada KCKT**

Detektor yang paling banyak digunakan dalam KCKT adalah detektor UV-Vis sehingga banyak metode yang dikembangkan untuk memasang atau menambahkan gugus kromofor yang akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu. Di samping itu, juga dikembangkan suatu metode untuk menghasilkan fluorofor (senyawa yang mampu berfluoresensi) sehingga dapat dideteksi dengan fluorometri.

Suatu reaksi derivatisasi harus mempunyai syarat-syarat sebagai berikut, yakni: produk yang dihasilkan harus mampu menyerap baik sinar ultraviolet atau sinar tampak atau dapat membentuk senyawa berfluoresen sehingga dapat dideteksi dengan spektrofluorometri. Proses derivatisasi harus cepat dan menghasilkan produk yang sebesar mungkin (100 %), produk hasil derivatisasi harus stabil selama proses derivatisasi dan deteksi serta sisa pereaksi untuk derivatisasi seharusnya tidak mengganggu pemisahan kromatografi (Neil, Gallagher, dan Bao, 2000; Ganjar, dan Rohman, 2007).

Derivatisasi pada KCKT dapat dilakukan baik sebelum masuk ke kolom (*pre column derivatization*) atau setelah kolom (*post-column derivatization*). Pada derivatisasi sebelum kolom, analit diderivatisasi lebih dahulu sebelum diinjeksikan ke dalam kromatografi, sementara untuk derivatisasi setelah kolom, analit diinjeksikan dahulu ke dalam kolom lalu diderivatisasi setelah keluar dari kolom (akan tetapi belum mencapai detektor).

### **2.5.1 Derivatisasi pasca-kolom (setelah kolom)**

Pada hakekatnya, reaksi yang telah disebut tadi dapat dimanfaatkan untuk derivatisasi setelah kolom. Pada cara ini, analit dikromatografikan sebagai bentuk belum direaksikan kemudian diderivatisasi setelah keluar kolom tetapi belum mencapai detektor. Keuntungan pendekatan ini adalah sifat kromatografis bahan



dapat digunakan untuk pemisahan dan adanya gangguan dari agen penderivat dapat dihindari. Kerugian utamanya adalah terjadinya sejumlah pelebaran pita. Pada derivatisasi setelah kolom, senyawa mungkin dirusak oleh oksidasi, reduksi dan lain-lain (Neil, Gallagher, dan Bao, 2000; Ganjar, dan Rohman, 2007).

### **2.5.2 Derivatisasi pre-kolom (sebelum kolom)**

Derivatisasi pada konyugasi dengan kromatografi telah dapat digunakan pada *off-line mode*, terutama pada tahap separasi (pre derivatisasi), atau dalam *online mode* (derivatisasi sebelum kolom). Umumnya, pre derivatisasi yang digunakan dalam kromatografi gas (GC), prinsipnya untuk meningkatkan penguapan, stabilitas temperatur atau kemampuan deteksi. Derivatisasi pada KCKT biasanya menggunakan amina alifatik, asam karboksilat, atau alkohol untuk memudahkan deteksinya pada konsentrasi rendah secara elektrokimia atau serapan. Sebagai tambahan, molekul kecil hidrofilik diubah menjadi senyawa yang lebih hidrofobik, agar dapat lebih mudah dianalisis dengan KCKT fase terbalik jadi lebih mudah atau fleksibel. Keuntungan dari pendekatan prederivatisasi adalah membutuhkan alat yang sederhana untuk berlangsungnya reaksi kimia yang menghasilkan beberapa produk reaksi. Selanjutnya sampel dianalisis menggunakan *autoinjector* dan senyawa standar yang tidak dimodifikasi secara langsung. Kondisi yang harus diperhatikan untuk menentukan derivatisasi prekolom yaitu :

1. reaksi stoikiometri dan struktur produk harus diketahui
2. reaksi yang cepat dan proses secara kuantitatif atau terakhir direproduksi
3. derivat harus stabil, cepat terpisah dan dapat dibedakan dari material awal.

### **2.6 Validasi Metode Analisis**

Validasi metode dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis yang digunakan akurat, spesifik, mudah direproduksi, dan stabil pada kisaran analit yang akan dianalisis. Suatu metode analisis harus divalidasi untuk melakukan verifikasi bahwa parameter-parameter kinerjanya cukup mampu untuk mengatasi problem analisis, karenanya suatu metode harus divalidasi, ketika:

- Metode baru dikembangkan untuk mengatasi problem analisis tertentu

- Metode yang sudah baku direvisi untuk menyesuaikan perkembangan atau karena munculnya suatu problem yang mengarahkan bahwa metode baku tersebut harus direvisi
- Penjaminan mutu yang mengindikasikan bahwa metode baku telah berubah seiring dengan berjalannya waktu
- Metode baku digunakan di laboratorium yang berbeda, dikerjakan oleh analis yang berbeda atau dikerjakan dengan alat yang berbeda
- Untuk mendemonstrasikan kesetaraan antar 2 metode, seperti antara metode baru dan metode baku.

#### 1. Ketepatan (Akurasi)

Akurasi merupakan ketelitian metode analisis atau kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima baik nilai konvensi, nilai sebenarnya, atau nilai rujukan. Akurasi diukur sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali pada suatu pengukuran dengan melakukan *spiking* pada suatu sampel. Untuk pengujian senyawa obat, akurasi diperoleh dengan membandingkan hasil pengukuran dengan bahan rujukan standar (Ganjar, dan Rohman, 2007). Untuk mendokumentasikan akurasi, ICH merekomendasikan pengumpulan data dari 9 kali penetapan kadar dengan 3 konsentrasi yang berbeda (misal 3 konsentrasi dengan 3 kali replikasi). Data harus dilaporkan sebagai persentase perolehan kembali.

#### 2. Kecermatan (Presisi)

Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relatif dari sejumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik. Sesuai dengan ICH, presisi harus dilakukan pada 3 tingkatan yang berbeda yaitu: keterulangan (*repeatability*), presisi antara (*intermediate precision*) dan ketertiruan (*reproducibility*) (Ganjar, dan Rohman, 2007).

- a. Keterulangan yaitu ketepatan (*precision*) pada kondisi percobaan yang sama (berulang) baik orangnya, peralatannya, tempatnya, maupun waktunya.

- b. Presisi antara yaitu ketepatan (*precision*) pada kondisi percobaan yang berbeda, baik orangnya, peralatannya, tempatnya, maupun waktunya.
- c. Ketertiruan merujuk pada hasil-hasil dari laboratorium yang lain.

Data presisi seharusnya mencakup: simpangan baku, simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (CV), dan kisaran kepercayaan. Presisi seringkali diekspresikan dengan SD atau standar deviasi relatif (RSD) dari serangkaian data. Nilai RSD dirumuskan dengan:

$$RSD = \frac{100 \times SD}{\bar{X}}; \text{ yang mana } \bar{X} \text{ merupakan rata-rata data, dan SD adalah}$$

standar deviasi serangkaian data. Pada pengujian dengan KCKT, nilai RSD antara 1-2 % biasanya dipersyaratkan untuk senyawa-senyawa aktif dalam jumlah yang banyak; sedangkan untuk senyawa-senyawa dengan kadar sekelumit, RSD berkisar antara 5-15 % (Ganjar, dan Rohman, 2007; The ICH Steering Committee, 1996).

### 3. Spesifisitas

Spesifisitas adalah kemampuan untuk mengukur analit yang dituju secara tepat dan spesifik dengan adanya komponen-komponen lain dalam matriks sampel seperti ketidakmurnian, produk degradasi, dan komponen matriks. Untuk tujuan identifikasi, spesifisitas ditunjukkan dengan kemampuan suatu metode analisis untuk membedakan antar senyawa yang mempunyai struktur molekul yang hampir sama. Untuk tujuan uji kemurnian dan tujuan pengukuran kadar, spesifisitas ditunjukkan oleh daya pisah 2 senyawa yang berdekatan (sebagaimana dalam kromatografi). Senyawa-senyawa tersebut biasanya adalah komponen utama atau komponen aktif dan atau suatu pengotor. Jika dalam suatu uji terdapat suatu pengotor (*impurities*) maka metode uji harus tidak terpengaruh dengan adanya pengotor ini (Ganjar dan Rohman, 2007).

Penetapan spesifisitas metode dapat diperoleh dengan 2 cara. Pertama (dan yang paling diharapkan), adalah dengan melakukan optimasi sehingga diperoleh senyawa yang dituju terpisah secara sempurna dari senyawa-senyawa lain. Cara kedua untuk memperoleh spesifisitas adalah dengan menggunakan detektor selektif, terutama untuk senyawa-senyawa yang terelusi secara bersama-sama.

#### 4. Batas Deteksi (*limit of detection*, LOD)

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi. LOD merupakan batas uji yang secara spesifik menyatakan apakah analit di atas atau di bawah nilai tertentu. Definisi batas deteksi yang paling umum digunakan dalam kimia analisis adalah bahwa batas deteksi merupakan kadar analit yang memberikan respon sebesar respon blanko ( $Y_b$ ) ditambah dengan 3 simpangan baku blanko ( $3S_b$ ).

LOD dapat dihitung berdasarkan pada standar deviasi (SD) respon dan kemiringan (*slope*,  $S$ ) kurva baku pada level yang mendekati LOD sesuai dengan rumus,  $LOD = 3,3 (SD/S)$ . Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan pada standar deviasi blanko, pada standar deviasi residual dari garis regresi, atau standar deviasi intersep  $Y$  pada garis regresi.

#### 5. Batas Kuantifikasi (*limit of quantification*, LOQ)

Batas kuantifikasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan. Sebagaimana LOD, LOQ juga diekspresikan sebagai konsentrasi. Kadang-kadang rasio *signal to noise* 10: 1 digunakan untuk menentukan LOQ. Metode perhitungan didasarkan pada standar deviasi respon (SD) dan *slope* ( $S$ ) kurva baku sesuai dengan rumus:  $LOQ = 10 (SD/ S)$ . Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan standar deviasi blanko pada standar deviasi residual garis regresi linier atau dengan standar deviasi intersep- $y$  pada garis regresi.

#### 6. Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon ( $y$ ) dengan konsentrasi ( $x$ ). Linieritas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (*slope*), intersep, dan koefisien korelasinya.

### 7. Kisaran (*range*)

Kisaran suatu metode didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dan tertinggi yang mana suatu metode analisis menunjukkan akurasi, presisi, dan linieritas yang mencukupi. Kisaran-kisaran konsentrasi yang diuji tergantung pada jenis metode dan kegunaannya. Untuk pengujian komponen utama, maka konsentrasi baku harus diukur di dekat atau sama dengan konsentrasi kandungan analit yang diharapkan. Suatu strategi yang baik adalah mengukur baku dengan kisaran 25, 50, 75, 100, 125, dan 150 % dari konsentrasi analit yang diharapkan.

### 8. Kekasaran (*Ruggedness*)

Kekasaran (*Ruggedness*) merupakan tingkat reproduibilitas hasil yang diperoleh di bawah kondisi yang bermacam-macam yang diekspresikan sebagai persen standar deviasi relatif (% RSD). Kondisi-kondisi ini meliputi laboratorium, analisis, alat, pereaksi, dan waktu percobaan yang berbeda.

Kekasaran suatu metode mungkin tidak akan diketahui jika suatu metode dikembangkan pertama kali, akan tetapi kekasaran suatu metode akan kelihatan jika digunakan berulang kali.

Strategi untuk menentukan kekasaran suatu metode akan bervariasi tergantung pada kompleksitas metode dan waktu yang tersedia untuk melakukan validasi. Penetapan kekasaran metode dapat dibatasi oleh kondisi percobaan yang kritis, misalnya pengecekan pengaruh kolom kromatografi yang berbeda (pabrik dan jenisnya sama) atau pengaruh-pengaruh operasionalisasi metode pada laboratorium yang berbeda. Dalam kasus seperti ini, semua faktor harus dijaga konstan seperti fase gerak dan pereaksi yang digunakan (Ganjar, dan Rohman, 2007; The ICH Steering Committee, 1996).

### 9. Ketahanan (*Robustness*)

Ketahanan merupakan kapasitas metode untuk tetap tidak terpengaruh oleh adanya variasi parameter metode yang kecil. Ketahanan dievaluasi dengan melakukan variasi parameter-parameter metode seperti: persentase pelarut organik, pH, kekuatan ionik, suhu, dan sebagainya. Suatu praktek yang baik untuk mengevaluasi ketahanan suatu metode adalah dengan memvariasikan parameter-parameter penting dalam suatu metode secara sistematis lalu mengukur pengaruhnya pada pemisahan.

## 10. Stabilitas

Untuk memperoleh hasil-hasil analisis yang reproduisibel dan reliabel, maka sampel, pereaksi dan baku yang digunakan harus stabil pada waktu tertentu (misalkan 1 hari, 1 minggu, 1 bulan, atau tergantung kebutuhan). Stabilitas semua larutan dan reagen sangat penting, baik yang berkaitan dengan suhu atau yang berkaitan dengan waktu. Jika larutan tidak stabil pada suhu kamar, maka penurunan suhu hingga 2-8 °C dapat meningkatkan stabilitas sampel dan standar. Pendingin dalam *autosampler* biasanya tersedia untuk keperluan ini. Stabilitas juga penting, terkait dengan waktu pengerjaan (Ganjar, dan Rohman, 2007; The ICH Steering Committee, 1996).

### 2.7 Metode analisis sisplatin dan ondansetron

#### 2.7.1 Sisplatin

Penetapan kadar sisplatin yang pernah dilakukan menggunakan spektrometri ionisasi elektrospai-spektrometer massa (ESI-MS), spektrofotometer serapan atom (AAS) dan kromatografi cair kinerja tinggi dengan detektor spektrometer massa,. Senyawa sisplatin tidak mempunyai gugus kromofor yang dapat dideteksi menggunakan detektor ultraviolet, sehingga perlu dilakukan derivatisasi sisplatin pre-kolom dengan pereaksi yang dapat memberikan gugus kromofor supaya mempunyai serapan pada daerah UV.

Beberapa pengembangan metode analisis sisplatin dengan menggunakan pereaksi penderivatisasi yang telah dilakukan oleh peneliti terdahulu yaitu :

1. Penetapan derivat platina dari sisplatin dalam jaringan manusia menggunakan elektropray ionisasi spektrometer massa (Kayoko, Hideki, Naoko dan Osamu, 2006).

Kondisi: metode nalisis menggunakan kromatografi cair elektropray ionisasi -spektrometer massa (LC/MS/MS). Sebagai fase gerak digunakan metanol dengan kecepatan alir 200µl/menit, voltase spray +4,5 KV dan suhu aliran kapiler silika 280 °C. Penyiapan sampel jaringan 5 mg dimikser dengan 5 µl HNO<sub>3</sub> 7 M lalu dipanaskan pada suhu 85 °C selama 8 jam dalam pH 3-7, tambahkan 1 µl dietilditiokarbamat 1M, kemudian diekstraksi dengan isoamil alkohol, lapisan isoamil alkohol diasamkan dengan 10 µl asam oksalat 1M, sebagai baku dalam digunakan logam perak (Ag). LOD yang diperoleh 30 pg

dengan kisaran konsentrasi 100-10000 pg. Perbandingan efisiensi pelarut ekstraksi untuk derivat platina-dietilditiokarbamat menggunakan isoamil alkohol, sikloheksanol dan kloroform, dengan membandingkan intensitas derivat platina dari masing-masing ekstraktor diketahui kemampuan ekstraksi kloroform 60 % terhadap isoamil alkohol dan sikloheksanol sebagai 100 %.

2. Kuantifikasi sisplatin, karboplatin dan oksaliplatin bebas dalam plasma manusia dengan kompleks platina-dietilditiokarbamat menggunakan kromatografi cair spektrometer massa (LC/MS) (Min, Kuntz, Fontanet, dan Bennett, 2006).

Kondisi: metode analisis dilakukan dengan kromatografi cair-spektrometer massa (LC/MS) menggunakan kolom C18 dengan fase gerak asam format 0,1 % dan asetonitril secara isokratik dengan kecepatan alir 0,3 ml/menit. Penyiapan derivat sampel dengan pereaksi dietilditiokarbamat 5 % dalam NaOH 0,2 N. Reaksi dilakukan pada suhu 45°C selama 30 menit, derivat diekstraksi dengan 2 ml metil-t-butyl eter., derivat dievaporasi pada suhu 45 °C selama 20 menit, kemudian residu dilarutkan dengan 200 µl asetonitril untuk dianalisis. Sebagai baku dalam digunakan paladium asetat. Linieritas dari tiga kali percobaan diperoleh koefisien korelasi 0,9967; 0,9947; 0,9958 dengan kisaran konsentrasi 1-1000 ng/ml.

3. Menentukan nefrotoksisitas analog FK506 dan penetapan ketergantungan nefrotoksisitas immunosupresan immunofilin dengan dosis tunggal sisplatin pada tikus menggunakan potensiasi assay (Mollison.*et al*, 1997).

Kondisi: analisis farmakokinetik sisplatin menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi dengan kolom YMC ODS-A (YMC, Morris Plains, 10 µm, 4,6 x 150 mm) pada suhu kamar. Fase gerak yang digunakan campuran asetonitril-air (70:30 % v/v), kecepatan alir 1 ml/menit dideteksi pada panjang gelombang 345 nm. Penyiapan sampel dideproteinasi dengan asetonitril lalu 0,3 ml aliquot diderivatisasi dengan 10 µl dietilditiokarbamat 10 % dalam air, dipanaskan diatas penangas air pada suhu 85 °C selama 10 menit dan derivat diekstraksi dengan 2 ml kloroform lalu dievaporasi.

4. Kinetika kompleks sisplatin dan monohidratnya dengan senyawa yang mengandung sulfur untuk pemberian otoprotektif lokal (Videhult, Laurell, Wallin, dan Ehrsson, 2006).

Kondisi: analisis sisplatin menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi detektor UV-Vis dengan kolom penukar anion, fase gerak menggunakan campuran asetonitril (60 %) dan asam suksinat 55 mM pH 5 (40 %) dan dideteksi pada panjang gelombang 303 nm.

5. Pengujian kromatografi cair kinerja tinggi dengan memperbaiki selektifitas sisplatin dan kompleks platina aktif dalam *ultrafiltrat* plasma (Andrews, Wung, dan Howell, 1984).

Kondisi : metode analisis menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi dengan kolom C18. Fase gerak yang digunakan campuran metanol-air, kecepatan alir 1,5 ml/menit dan dideteksi pada panjang gelombang 254 nm. Sampel diderivatisasi dengan natrium dietilditiokarbamat dan menggunakan baku dalam nikel klorida. Didapat batas sensitifitas 0,1 µg/ml sisplatin dalam *ultrafiltrat* plasma.

### 2.7.2 Ondansetron

Metode kromatografi cair kinerja tinggi untuk pemisahan dan pengujian ondansetron hidroklorida dan kemungkinan senyawa pengotornya dalam serbuk dan sediaan farmasi sudah banyak dikembangkan oleh peneliti sebelumnya. Metode pengujian untuk kemurnian dalam sediaan dan bahan baku ondansetron sudah terstandarisasi dalam USP. Metode KCKT untuk pengujian lebih populer menggunakan kolom polar seperti kolom nitril dan masih sedikit yang menggunakan kolom nonpolar terutama kolom C18 dan C8 yang penggunaannya lebih umum untuk analisis hampir semua senyawa obat.

Beberapa pengembangan metode analisis ondansetron yang telah dilakukan oleh peneliti terdahulu yaitu:

1. Ondansetron tidak menurunkan ambang getar pada voluntir sehat (Komatsu.*et al*, 2006).

Kondisi: metode analisis menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi-detektor UV-Vis pada panjang gelombang 250 nm dengan kolom Nucleodur 100-5-CN-RP (250 x 4 mm), fase gerak yang digunakan campuran dapar



dinatrium fosfat 20 mM pH 5,4 dan asetonitril (60:40 % v/v), kecepatan alir 1,5 ml/menit dengan suhu kolom 35 °C. Penyiapan sampel dengan cara ekstraksi fase padat (SPE) menggunakan *catridge* air deionisasi, asam asetat dan metanol serta prazosin hidroklorida sebagai baku dalam. Kisaran konsentrasi yang digunakan 150-400 ng/ml dengan koefisien korelasi 0,99. koefisien variasi 2,5 % dan batas kuantitasi (LOQ) 15 ng/ml, waktu retensi baku dalam 2,96 menit dan ondansetron 3,36 menit.

2. Penetapan ondansetron dan metabolit hidroksinya dalam serum manusia menggunakan ekstraksi fase padat dan kromatografi cair elektro spray ion positif bersama spektrometer massa (Xiaohui, Michael, James, dan Stewart, 28 juli 2008).

Kondisi : metode analisis menggunakan kromatografi cair spektrometer massa dengan kolom silika dan fase gerak campuran amonium asetat 20 mM pH 4,7- asetonitril (85:15 % v/v) kecepatan alir 0,4 ml/menit. Penyiapan sampel dengan cara SPE menggunakan *catridge* trietilamina-metanol. Pirimetamin digunakan sebagai baku dalam. Kisaran konsentrasi yang digunakan 1-500 ng/ml dan diperoleh batas deteksi (LOD) 250 pg/ml.

3. Pengembangan dan validasi indikasi stabilitas metode untuk ondansetron dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) (Kupiec, Kostuck dan Vu., 9 Agustus 2008).

Kondisi : metode analisis menggunakan KCKT-detektor *diode-array* dan kolom C18 (15 cm x 4,6 mm, 5  $\mu$ m). Sebagai fase gerak digunakan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  20 mM (pH 7) dan asetonitril (75:25 %v/v) dengan kecepatan alir 1,8 ml/menit. Ondansetron dideteksi pada panjang gelombang 225 nm dengan waktu retensi 5,9 menit. Kisaran konsentrasi 25-125 % untuk analisis farmasetik dengan koefisien korelasi 0,9999 dan koefisien variasi  $\leq 1$  %.

4. Penetapan ondansetron HCl pada plasma kelinci menggunakan KCKT : validasi dan aplikasi pada pengujian farmakokinetik (Sutariya, dan Mashru, 9 Agustus 2008).

Kondisi : metode analisis menggunakan KCKT detektor UV-Vis pada panjang gelombang 249 nm dengan kolom C18 (250 x 4,6 mm). Sampel disiapkan dengan cara ekstraksi cair-cair menggunakan diklorometan.

Klorpromazin hidroklorida digunakan sebagai baku dalam. Kisaran konsentrasi yang digunakan 25-1000 ng/ml, diperoleh koefisien korelasi  $r^2 = 0,99$ , presisi ( $CV < 5 \%$ ) dan akurasi ( $< 10 \%$  diff).

5. Pengujian ondansetron HCl dan pengotornya secara kromatografi cair menggunakan fase diam yang baru (Varvara, Monciu, Arama dan Popescu, 2008).

Kondisi : metode analisis menggunakan KCKT detektor UV-Vis dengan kolom Hypercarb<sup>®</sup> (100 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m, *phorous graphitic carbon*). Fase gerak yang digunakan asetonitril dan asam trifluoroasetat 0,1 % (90 : 10 % v/v) dengan kecepatan alir 1,5 ml/menit dan suhu kolom 50 °C. Metode dibandingkan dengan metode USP menggunakan kolom L10-Waters Pherisorb<sup>®</sup> S5CN RP (150 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m). Sebagai fase gerak digunakan asetonitril dan dapar fosfat 20 mM pH 5,4 (50:50 % v/v) dengan kecepatan alir 1,5 ml/menit, dideteksi pada panjang gelombang 216 nm. Hasil perbandingan kedua metode tidak ada perbedaan yang signifikan antara metode USP dengan metode yang baru untuk menentukan kuantitatif ondansetron HCl dan pengotornya dalam serbuk dan sediaan.

## **BAB III**

### **BAHAN, ALAT DAN METODE**

#### **3.1. Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan adalah ondansetron hidroklorida dihidrat (Kalbe Farma), sisplatin (Sigma Aldrich), larutan infus NaCl 0,9% (Otsuka), asetonitril pro HPLC (Merck), aquabidestilata (Otsuka), kalium dihidrogen fosfat (Merck), natrium dietilditiokarbamat (Sigma Aldrich), natrium hidroksida (Brataco), asam hidroklorida (Merck), isoamil alkohol (Merck) dan kloroform (Merck).

#### **3.2. Alat**

Peralatan yang digunakan adalah seperangkat alat KCKT (Shimadzu class VP-10 ADVP), kolom C-18 (Sunfire Waters<sup>®</sup> dan Knauer<sup>®</sup>), syringe (Hamilton), Penyaring sampel 0.45  $\mu\text{m}$ , spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1610), alat-alat gelas, pH meter (Euttech Instrument pH 510), evaporator (Caliper Life Science), termomikser (Effendorf), tabung sampel 1.5 ml, mikropipet (Effendorf), sentrifugator dengan tabung sentrifugasi (Barnstead Thermolyne) dan lain-lain.

#### **3.3. Lokasi**

Laboratorium BA/BE Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.

#### **3.4. Metode**

##### **3.4.1. Metode uji untuk sampel sisplatin dan ondansetron hidroklorida dihidrat**

###### **3.4.1.1 Sisplatin**

###### **a. Penentuan panjang gelombang maksimum untuk analisis**

Sebanyak 1 mg standar sisplatin dilarutkan dalam 10 ml aquabidest hingga diperoleh larutan sisplatin 100 ppm. Selanjutnya 100  $\mu\text{l}$  larutan sisplatin 100 ppm diambil dan diderivatisasi dengan 10  $\mu\text{l}$  natrium dietilditiokarbamat 10 % dalam natrium hidroksida 0,2N, lalu dipanaskan diatas penangas air pada suhu 85 °C selama 10 menit, kemudian didinginkan hingga suhu kamar. Setelah itu ditambahkan isoamilalkohol 2ml, dikocok selama 1 menit. Sebanyak 500 $\mu\text{l}$  asam hidroklorida 1N ditambahkan dan dikocok selama 1 menit, dan larutan disentrifus

selama 2 menit. Lapisan isoamilalkohol diambil dan dievaporasi pada suhu 85 °C dengan tekanan 15 Psi selama 30 menit. Endapan derivat yang terbentuk dilarutkan dalam 3 ml asetonitril-air (70:30 v/v). Serapan derivat platina-dietilditiokarbamat diukur pada panjang gelombang 200 – 400 nm, dan ditentukan panjang gelombang maksimal derivat sisplatin-dietilditiokarbamat (Minakata, Hideki, Naoko dan Osamu, 2006; Min, Kuntz, Fontanet, dan Bennett, 2006; Raghavan, Burchett, Loffredo dan Mulligan, 2000; Steven, Oakley, Walther, dan Pizzo, 1984).

## **b. Optimasi metode analisis**

### **1. Pembuatan larutan natrium dietilditiokarbamat 10%**

Sebanyak 100 mg natrium dietilditiokarbamat anhidrat dilarutkan dalam 1 ml natrium hidroksida 0,2 N dalam vial 2 ml, dikocok dengan vorteks hingga larut ( Min, Kuntz, Fontanet, dan Bennett, 2006).

### **2. Optimasi reaksi derivatisasi sisplatin-dietilditiokarbamat**

#### **a) Pengaruh suhu**

Larutan sisplatin 100 µl dengan kadar 100 ppm dipipet dan ditambah dengan 10 µl larutan natrium dietilditiokarbamat 10 % lalu dikocok, biarkan bereaksi diatas penangas air pada suhu 75, 80, 85 dan 90 °C selama 10 menit, kemudian didinginkan hingga suhu kamar. Setelah dingin ditambahkan 2 ml isoamilalkohol, dikocok selama 1 menit. Selanjutnya ditambah 500µl asam hidroklorida 1N, dikocok selama 1 menit, lalu disentrifus selama 2 menit. Setelah itu didiamkan beberapa menit, lapisan isoamilalkohol diambil untuk diukur intensitasnya pada panjang gelombang maksimum terpilih.

#### **b) Pengaruh waktu pemanasan**

Sebanyak 100 µl larutan sisplatin dengan kadar 100 ppm dipipet dan ditambahkan 10 µl larutan natrium dietilditiokarbamat 10 % lalu dikocok, dibiarkan bereaksi diatas penangas air pada suhu terpilih selama 5, 10, 15, 20 dan 25 menit, kemudian didinginkan hingga suhu kamar. Setelah dingin, 2 ml isoamilalkohol ditambahkan dan dikocok selama 1 menit. Kemudian ditambah 500µl asam hidroklorida 1N dan dikocok selama 1

menit, lalu disentrifus selama 2 menit. Setelah itu didiamkan beberapa menit, lapisan isoamilalkohol diambil untuk diukur intensitasnya pada panjang gelombang maksimum terpilih.

c) Pengaruh jumlah natrium dietilditiokarbamat terhadap pembentukan kompleks dengan sisplatin

Sebanyak 100  $\mu$ l larutan sisplatin dengan kadar 100 ppm dipipet dan ditambahkan 5, 10, 15, 20 dan 25  $\mu$ l larutan natrium dietilditiokarbamat 10% dan dikocok, dibiarkan bereaksi diatas penangas air pada suhu dan waktu terpilih, kemudian didinginkan hingga suhu kamar. Setelah dingin, ditambah 2 ml isoamilalkohol, dikocok selama 1 menit. Kemudian ditambah 500 $\mu$ l asam hidroklorida 1N, dikocok selama 1 menit lalu disentrifus selama 2 menit. Setelah itu didiamkan beberapa menit, lapisan isoamilalkohol diambil untuk diukur intensitasnya pada panjang gelombang maksimum terpilih.

### **3. Penetapan komposisi fase gerak sisplatin**

Sebanyak 100  $\mu$ l larutan sisplatin dengan kadar 100 ppm dipipet dan ditambahkan 10  $\mu$ l larutan natrium dietilditiokarbamat 10 %, dikocok, dan dibiarkan bereaksi diatas penangas sesuai dengan hasil optimasi reaksi derivatisasi. Sebanyak 1ml lapisan isoamilalkohol, diuapkan dengan *rotary evaporator*, residu dilarutkan dalam 500  $\mu$ l fase gerak. Kemudian diambil 20  $\mu$ l dengan *syringe* lalu diinjeksikan pada KCKT dengan komposisi fase gerak asetonitril-air, dilakukan dengan berbagai komposisi fase gerak asetonitril-air ( 65:35, 70:30, dan 75:25 v/v) dengan kecepatan aliran 1 ml/menit dan dideteksi pada panjang gelombang maksimum terpilih (Mollison, *et al.* 1997). Dicatat waktu retensinya, dihitung faktor ikutan, jumlah lempeng teoritis dan HETP dan dilakukan untuk masing-masing komposisi fase gerak.

### **4. Penetapan kecepatan alir fase gerak**

Sebanyak 100  $\mu$ l larutan sisplatin dengan kadar 100 ppm dipipet dan ditambahkan 10  $\mu$ l larutan natrium dietilditiokarbamat 10 %, dikocok, biarkan bereaksi diatas penangas sesuai dengan hasil optimasi reaksi

derivatisasi. Kemudian diambil 1 ml lapisan isoamilalkohol, diuapkan dengan evaporator, residu dilarutkan dalam 500  $\mu$ l fase gerak. Lalu sebanyak 20  $\mu$ l diambil dengan *syringe* lalu diinjeksikan pada KCKT dengan komposisi fase gerak asetonitril-air, dilakukan dengan berbagai komposisi fase gerak asetonitril-air terpilih dengan kecepatan aliran 0,8; 1 dan 1,2 ml/menit dan dideteksi pada panjang gelombang maksimum terpilih. Waktu retensi dicatat untuk masing-masing puncak dan dihitung faktor ikutan, jumlah lempeng teoritis dan HETP untuk masing-masing kecepatan alir.

## 5. Uji selektifitas

### a) Pembuatan kromatogram larutan standar sisplatin.

Sebanyak 100  $\mu$ l larutan sisplatin dengan kadar 40 ppm dipipet dan diderivatisasi dengan dietilditiokarbamat sesuai prosedur hasil optimasi reaksi derivatisasi. Selanjutnya diambil 1 ml lapisan isoamilalkohol, diuapkan dengan evaporator, residunya dilarutkan dalam 500  $\mu$ l fase gerak lalu diinjeksikan sebanyak 20  $\mu$ l pada KCKT dengan komposisi dan kecepatan alir terpilih, diamati puncaknya pada kromatogram KCKT.

### b) Pembuatan kromatogram larutan uji sisplatin dan ondansetron.

Sebanyak 1 ml sisplatin 1 mg/ml dan 1 ml ondansetron hidroklorida 2 mg/ml (injeksi) dipipet dan dimasukkan dalam labu ukur 10 ml. Selanjutnya dilarutkan dengan larutan infus NaCl 0,9 % hingga 10 ml, diambil 1 ml dan diencerkan hingga 10 ml dengan larutan infus NaCl 0,9 %. Didiamkan selama 24 jam pada suhu kamar, kemudian ditambahkan larutan natrium dietilditiokarbamat sesuai prosedur hasil optimasi reaksi derivatisasi. Sebanyak 1 ml lapisan isoamilalkohol dipipet dan diuapkan dengan *rotary evaporator*, residunya dilarutkan dalam 500  $\mu$ l fase gerak, lalu diinjeksikan sebanyak 20  $\mu$ l pada KCKT dengan komposisi dan kecepatan alir terpilih. Diamati puncaknya pada kromatogram KCKT.

Hasil kromatogram sisplatin standar dan sampel uji harus menunjukkan waktu retensi yang sama dan pada daerah sekitar waktu retensi sisplatin, tidak boleh ada gangguan yang dapat dilihat dari larutan blanko.

## 6. Uji efektifitas pelarut ekstraksi

- a) Pelarut isoamilalkohol: Sebanyak 100  $\mu$ l larutan sisplatin dengan kadar 40 ppm diambil dan diderivatisasi dengan dietilditiokarbamat sesuai prosedur hasil optimasi reaksi derivatisasi. Selanjutnya sejumlah 1 ml lapisan isoamilalkohol diambil, diuapkan dengan *rotary evaporator*, residu dilarutkan dalam 500  $\mu$ l fase gerak, lalu diinjeksikan sebanyak 20  $\mu$ l pada KCKT dengan komposisi dan kecepatan alir terpilih, diamati puncaknya pada kromatogram KCKT.
- b) Pelarut kloroform : Sebanyak 100  $\mu$ l larutan sisplatin dengan kadar 40 ppm dipipet dan diderivatisasi dengan dietilditiokarbamat sesuai prosedur hasil optimasi reaksi derivatisasi, digunakan pelarut ekstraksi kloroform. Selanjutnya diambil 1 ml lapisan kloroform, diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60 °C selama 10 menit, residu dilarutkan dalam 500  $\mu$ l fase gerak, lalu diinjeksikan sebanyak 20  $\mu$ l pada KCKT dengan komposisi dan kecepatan alir terpilih, diamati puncaknya pada kromatogram KCKT.

Hasil kromatogram dari kedua pelarut ekstraksi di bandingkan luas puncak dan ada atau tidak puncak yang tidak diinginkan akibat pemanasan waktu penguapan pelarut ekstraksi.

### c. Validasi metode analisis sisplatin

#### 1. Pembuatan kurva kalibrasi

- a) Pembuatan larutan standar sisplatin

Ditimbang 20 mg sisplatin lalu dilarutkan dalam 100 ml larutan NaCl 0,9 % dalam labu ukur 100 ml. Dipipet 1, 2, 3, 4, 5, 6 dan 7 ml, lalu di encerkan masing- masing dengan larutan NaCl 0,9 % sampai 10 ml dalam labu ukur 10 ml untuk memperoleh larutan dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100, 120 dan 140 ppm. Kemudian masing-masing larutan ditambahkan larutan natrium dietilditiokarbamat 10% sesuai prosedur hasil optimasi reaksi derivatisasi. Sebanyak 1 ml lapisan kloroform diambil, diuapkan dengan *rotary evaporator*, residu dilarutkan dalam 500  $\mu$ l fase gerak untuk dianalisis.

b) Pembuatan kurva kalibrasi sisplatin

Sebanyak 20 µl diambil dari masing-masing konsentrasi larutan hasil derivatisasi sisplatin, diinjeksikan ke alat KCKT dengan kondisi fase gerak dan kecepatan alir terpilih, ini dilakukan tiga kali masing- masingnya. Dari data pengukuran dibuat kurva kalibrasi dengan menggunakan persamaan garis regresi linier (  $y = a + bx$  ) untuk sisplatin, dimana x adalah konsentrasi sisplatin, dan y adalah luas puncak perbandingan.

**2. Uji linearitas**

Linearitas dari kurva kalibrasi dilihat dengan menghitung koefisien korelasi (r) dari persamaan garis regresi linear menggunakan perangkat lunak komputer *microsoft office excel*.

**3. Penetapan batas kuantitasi (LOQ) dan batas deteksi (LOD)**

LOQ dihitung melalui persamaan garis regresi linier dari kurva kalibrasi, dengan rumus :  $LOQ = \frac{10(Sy/x)}{b}$ , sedangkan nilai batas deteksi (LOD) diperoleh dengan rumus :  $LOD = \frac{3(Sy/x)}{b}$ .

Dimana (Sy/x) adalah simpangan baku residual, b adalah slope dari persamaan regresi dihitung menggunakan perangkat lunak komputer *microsoft office excel*.

**4. Uji presisi dan akurasi**

Larutan sisplatin dengan konsentrasi 73,9 (80%), 92,42 (100%) dan 110,9 (120%) ppm dilarutkan dalam larutan infus NaCl 0,9%, kemudian masing-masing larutan diderivatisasi dengan natrium dietilditiokarbamat 10% sesuai dengan prosedur. Sebanyak 20 µl larutan sampel masing-masing disuntikkan ke alat KCKT dengan kondisi fase gerak dan kecepatan alir terpilih, diulang sebanyak enam kali untuk masing-masing konsentrasi. Dilakukan pengukuran intra hari, kemudian dihitung nilai simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (KV) dari masing-masing konsentrasi untuk presisi. Akurasi ditentukan dengan menghitung persen perbedaan konsentrasi terukur dari masing-masing pengukuran terhadap konsentrasi sebenarnya sebagai % diff.



## 5. Uji perolehan kembali

Larutan sisplatin dengan konsentrasi 73,9 (80%), 92,42 (100%) dan 110,9 (120%) ppm dilarutkan dalam larutan infus NaCl 0,9 % . Kemudian masing-masing larutan diderivatisasi dengan natrium dietilditiokarbamat 10 % sesuai dengan prosedur, sebanyak 20 µl larutan sampel masing-masing disuntikkan ke alat KCKT dengan kondisi fase gerak dan kecepatan alir terpilih, diulang sebanyak enam kali untuk masing-masing konsentrasi. Dihitung konsentrasi terukur dari masing-masing pengukuran dan dibandingkan terhadap konsentrasi sebenarnya sebagai % perolehan kembali.

## 6. Ketangguhan metode

Larutan sisplatin dengan konsentrasi 73,9 (80%), 92,42 (100%) dan 110,9 (120%) ppm dilarutkan dalam larutan infus NaCl 0,9 % . Kemudian masing-masing larutan diderivatisasi dengan natrium dietilditiokarbamat 10 % sesuai dengan prosedur, sebanyak 20 µl larutan sampel masing-masing disuntikkan ke alat KCKT dengan kondisi fase gerak dan kecepatan alir terpilih. Dihitung nilai simpangan baku relatif dan % diff dari masing-masing larutan tersebut untuk penyuntikan inter hari.

## 7. Analisis kestabilan derivat sisplatin yang terbentuk

Larutan sisplatin dengan konsentrasi 92,42 (100%) ppm dilarutkan dalam larutan infus NaCl 0,9 % . Kemudian larutan diderivatisasi dengan natrium dietilditiokarbamat 10 % sesuai dengan prosedur, larutan derivat dalam fase gerak disimpan pada suhu kamar selama 24 jam. Sebanyak 20 µl larutan sampel disuntikkan ke alat KCKT dengan kondisi fase gerak dan kecepatan alir terpilih setiap waktu 5 menit , 0,5; 1; 1,5; 2; 3 ; 4 ; 5; 6 dan 24 jam. Diamati adanya ketidakstabilan derivat dengan menghitung perbandingan luas puncak dari masing-masing waktu.

### 3.4.1.2 Ondansetron hidroklorida dihidrat

#### a. Penetapan panjang gelombang maksimum untuk analisis

Sejumlah 1 mg standar ondansetron hidroklorida anhidrat dilarutkan dalam 10 ml aquades hingga diperoleh larutan ondansetron hidroklorida 100 ppm. Sebanyak 1ml larutan 100 ppm dipipet dan diencerkan dalam 10 ml aquades, didapat larutan ondansetron hidroklorida 10 ppm. Kemudian serapan ondansetron hidroklorida diukur pada panjang gelombang 200 – 400 nm, lalu ditentukan panjang gelombang maksimal ondansetron hidroklorida.

#### b. Optimasi metode analisis

##### 1. Penetapan komposisi fase gerak ondansetron hidroklorida dihidrat

Sejumlah 5 mg ondansetron hidroklorida dihidrat dimasukkan kedalam labu ukur 50 ml, tambahkan/ larutkan dengan fase gerak hingga 50 ml dan didapatkan larutan ondansetron hidroklorida dihidrat 100 ppm. Sebanyak 20  $\mu$ l dengan *syringe* diambil dan diinjeksikan pada KCKT kolom C18-RP dengan komposisi fase gerak asetonitril-kalium dihidrogen fosfat 0,02 M pH 7 (dengan natrium hidroksida 1 M), dilakukan dengan berbagai komposisi fase gerak asetonitril-kalium dihidrogen fosfat 0,02 M (20:80 v/v) dengan kecepatan aliran 2 ml/menit dan dideteksi pada panjang gelombang maksimum terpilih. Dicatat waktu retensinya dan dihitung faktor ikutan, jumlah lempeng teoritis dan HETP. Selanjutnya dilakukan untuk masing-masing komposisi fase gerak yang lainnya(25:75 dan 30:70 v/v) (Kupiec, Kostuck dan Vu, 2004).

##### 2. Penetapan kecepatan fase gerak

Larutan ondansetron hidroklorida dihidrat 100 ppm diambil 20  $\mu$ l dengan *syringe* lalu diinjeksikan pada KCKT kolom C18-RP dengan komposisi fase gerak asetonitril-kalium dihidrogen fosfat 0,02 M pH 7 (dengan natrium hidroksida 1 M), dilakukan dengan komposisi fase gerak asetonitril-kalium dihidrogen fosfat 0,02 M terpilih dengan kecepatan aliran 2 ml/menit dan dideteksi pada panjang gelombang maksimum terpilih. Dicatat waktu retensinya dan dihitung faktor ikutan, jumlah lempeng teoritis dan HETP. Selanjutnya dilakukan untuk masing-masing kecepatan alir fase gerak yang

lainnya (2,2 dan 1,8 ml/menit).

### 3. Uji kekuatan dapar

Dapar kalium dihidrogen fosfat 0,05 M pH 7 dilarutkan dengan natrium hidroksida 1 M. Dibuat komposisi fase gerak sesuai dengan komposisi fase gerak yang terpilih.

Larutan ondansetron hidroklorida dihidrat 100 ppm diambil sebanyak 20  $\mu$ l dengan *syringe* dan disuntikkan pada KCKT dengan komposisi fase gerak asetonitril-kalium dihidrogen fosfat 0,02 M pH 7 (dengan natrium hidroksida 1 M), dilakukan dengan komposisi fase gerak asetonitril-kalium dihidrogen fosfat 0,02 M terpilih dengan kecepatan aliran terpilih dan dideteksi pada panjang gelombang maksimum terpilih. Dicatat waktu retensinya dan dihitung faktor ikutan, jumlah lempeng teoritis dan HETP. Ini dilakukan juga untuk kekuatan dapar 0,05 M.

### 4. Uji selektifitas ondansetron hidroklorida

#### a) Kromatogram larutan standar ondansetron hidroklorida dihidrat

Sejumlah 1 mg standar ondansetron hidroklorida anhidrat dilarutkan dalam 25 ml aquades hingga diperoleh larutan ondansetron hidroklorida 40 ppm. 1ml larutan 40 ppm dipipet dan diencerkan dalam 10 ml aquades, didapat larutan ondansetron hidroklorida 4 ppm. Sejumlah 20  $\mu$ l diinjeksikan pada KCKT, diamati puncaknya pada kromatogram KCKT.

#### b) Kromatogram hasil urai sampel ondansetron hidroklorida dihidrat.

Sebanyak 1 ml larutan injeksi ondansetron hidroklorida 2 mg/ml dimasukkan dalam labu ukur 50 ml dan dilarutkan dengan larutan infus NaCl 0,9 % hingga 50 ml, divortek selama 1 menit sehingga diperoleh larutan ondansetron 40 ppm. Kemudian dipipet 1ml larutan 40 ppm, diencerkan dalam 10 ml NaCl dan diperoleh larutan 4 ppm. Larutan dibiarkan selama 24 jam pada suhu kamar untuk memperoleh hasil hasil urai dalam sampel. Sampel disaring sebelum diinjeksikan sebanyak 20  $\mu$ l pada KCKT. Diamati puncaknya pada kromatogram hasil urai ondansetron.

#### c) Kromatogram hasil urai sampel ondansetron hidroklorida dihidrat dan sisplatin.

Sejumlah 1 ml sampel sisplatin injeksi 1 mg/ml diencerkan hingga 10 ml dengan NaCl, maka diperoleh larutan 100 ppm. Kemudian dipipet 3 ml larutan sisplatin 100 ppm dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml. Ditambahkan 1ml larutan ondansetron 40 ppm, dan dicukupkan hingga 10 ml dengan NaCl, maka didapatkan larutan ondansetron 4 ppm dan sisplatin 30 ppm. Didiamkan selama 24 jam pada suhu kamar, sampel disaring sebelum diinjeksikan pada KCKT.

Hasil kromatogram ondansetron hidroklorida dihidrat standar dan sampel uji harus menunjukkan waktu retensi yang sama dan pada daerah sekitar waktu retensi ondansetron tersebut tidak boleh ada gangguan yang dapat dilihat dari larutan blanko.

### **c. Validasi metode analisis ondansetron hidroklorida dihidrat**

#### **1. Pembuatan kurva kalibrasi**

##### **a) Pembuatan larutan standar ondansetron hidroklorida dihidrat**

Ditimbang 10 mg ondansetron hidroklorida dihidrat, dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml lalu dilarutkan dengan NaCl 0,9 % 100ml, maka diperoleh larutan ondansetron hidroklorida 100 ppm. Selanjutnya dipipet sebanyak 2, 4, 5, 6, 7, 8 dan 10 ml, lalu diencerkan masing-masing dengan NaCl sampai 10 ml dalam labu ukur 10 ml untuk membuat larutan dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Dari larutan 50 ppm diambil 1 ml dan diencerkan dengan NaCl hingga 10 ml untuk mendapatkan larutan ondansetron 5 ppm.

##### **b) Pembuatan kurva kalibrasi ondansetron hidroklorida dihidrat**

Sejumlah 20 µl dari masing-masing larutan hasil pengenceran ondansetron 5, 20, 40, 50, 60, 70, 80 dan 100 ppm disuntikkan ke alat KCKT dengan kondisi fase gerak dan kecepatan alir terpilih, dilakukan tiga kali masing-masingnya. Dari data pengukuran dibuat kurva kalibrasi dengan menggunakan persamaan garis regresi linier (  $y = a + bx$  ) untuk ondansetron, dimana x adalah konsentrasi ondansetron dan y adalah luas puncak perbandingan.

## 2. Uji linearitas

Linearitas dari kurva kalibrasi dilihat dengan menghitung koefisien korelasi (r) dari persamaan garis regresi linear menggunakan perangkat lunak komputer *microsoft office excel*.

## 3. Penetapan limit kuantitasi (LOQ) dan batas deteksi (LOD)

LOQ dihitung melalui persamaan garis regresi linier dari kurva kalibrasi,

$$\text{LOQ} = \frac{10(Sy/x)}{b}$$

sedangkan nilai batas deteksi (LOD) diperoleh dengan rumus :

$$\text{LOD} = \frac{3(Sy/x)}{b}$$

Dimana (Sy/x) adalah simpangan baku residual, b adalah slope dari persamaan regresi menggunakan perangkat lunak komputer *microsoft office excel*.

## 4. Uji presisi dan akurasi

Larutan ondansetron hidroklorida dihidrat dengan konsentrasi 25, 50 dan 75 ppm dilarutkan dalam larutan infus NaCl 0,9 %. Sebanyak 20 µl larutan sampel masing-masing disuntikkan ke alat KCKT dengan kondisi fase gerak dan kecepatan alir terpilih, diulang sebanyak enam kali untuk masing-masing konsentrasi. Dilakukan pengukuran intra hari, kemudian dihitung nilai simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (KV) dari masing-masing konsentrasi untuk presisi. Akurasi ditentukan dengan menghitung persen perbedaan konsentrasi terukur dari masing-masing pengukuran terhadap konsentrasi sebenarnya sebagai % diff.

## 5. Uji perolehan kembali

Larutan Ondansetron hidroklorida dihidrat dibuat dengan konsentrasi 47,32 (80%), 59,15 (100%) dan 70,98 (120%) ppm. Sebanyak 20 µl larutan sampel masing-masing disuntikkan ke alat KCKT dengan kondisi fase gerak dan kecepatan alir terpilih, diulang sebanyak enam kali untuk masing-masing konsentrasi. Dihitung konsentrasi terukur dari masing-masing pengukuran dan dibandingkan terhadap konsentrasi sebenarnya sebagai % perolehan kembali.

## 6. Ketangguhan metode

Larutan Ondansetron hidroklorida dihidrat dibuat pada konsentrasi 25, 50 dan 75 ppm dalam larutan infus NaCl 0,9 %. Sebanyak 20 µl larutan sampel masing-masing disuntikkan ke alat KCKT dengan kondisi fase gerak dan kecepatan alir terpilih. Dihitung nilai simpangan baku relatif dan % diff dari masing-masing larutan tersebut untuk penyuntikan inter hari.

### 3.4.2. Penetapan uji stabilitas kimia sisplatin dan ondansetron dalam larutan infus NaCl 0,9 % selama 24 jam dengan menggunakan kontrol yaitu sisplatin dan ondansetron dalam larutan infus NaCl 0,9 %.

1. Pengujian kontrol sisplatin dan ondansetron hidroklorida dihidrat dalam larutan infus NaCl 0,9% selama 24 jam.
  - a) Larutan injeksi sisplatin 92,42 ppm dilarutkan dalam larutan infus NaCl 0,9 % 500 ml. Sampel diambil 10 ml mulai 0, 30, 60, 90, 120 menit, 4, 6, 8, 16 dan 24 jam. Kemudian larutan diderivatisasi sesuai dengan prosedur optimasi dan diambil 1 ml lapisan kloroform dievaporasi, residu dilarutkan dalam 500 µl fase gerak. Sebanyak 20 µl disuntikkan pada KCKT dari masing-masing waktu pengambilan sampel dan dielusi dengan komposisi fase gerak, kecepatan aliran dan pada panjang gelombang terpilih untuk kondisi uji sisplatin, dicatat luas puncak kromatogramnya dan dihitung konsentrasi untuk masing-masingnya. Kemudian diukur pH larutan setiap waktu pengamatan.
  - b) Larutan injeksi ondansetron hidroklorida 59,15 ppm dibuat dalam larutan infus NaCl 0,9 % 500 ml. Sampel diambil sebanyak 20 µl mulai 0, 30, 60, 90, 120 menit, 4, 6, 8, 16 dan 24 jam dan disuntikkan pada KCKT dari masing-masing waktu pengambilan sampel. Kemudian dielusi dengan komposisi fase gerak, kecepatan aliran dan pada panjang gelombang terpilih untuk kondisi pengujian ondansetron hidroklorida, dicatat luas puncak kromatogramnya dan dihitung konsentrasi masing-masingnya. Selanjutnya diukur pH larutan setiap waktu pengamatan.
  - c) Sebagai kontrol, dibuat grafik waktu terhadap konsentrasi masing-masing sampel obat.

2. Penetapan uji stabilitas kimia sisplatin dan ondansetron dalam larutan infus NaCl 0,9 % selama 24 jam

Sediaan injeksi ondansetron hidroklorida 32 mg/16ml dan sisplatin 50 mg/25ml disuntikkan dalam larutan infus NaCl 0,9 % 500 ml.

- a) Sampel diambil 1 ml mulai 0, 30, 60, 90, 120 menit, 4, 6, 8, 16 dan 24 jam. Kemudian larutan diderivatisasi sesuai prosedur derivatisasi dan diambil lapisan kloroform lalu dievaporasi pada suhu 60°C selama 10 menit. Residu dilarutkan dengan 500 µl fase gerak. Sejumlah 20 µl larutan dipipet dan disuntikkan pada KCKT dari masing-masing waktu pengambilan sampel dan dielusi dengan komposisi fase gerak, kecepatan aliran dan pada panjang gelombang terpilih untuk pengujian konsentrasi sisplatin dalam larutan campuran, dicatat luas puncak kromatogramnya dan dihitung konsentrasi sisplatin.
- b) Sampel diambil 1 ml mulai 0, 30, 60, 90, 120 menit, 4, 6, 8, 16 dan 24 jam. Sejumlah 20 µl larutan dipipet dan disuntikkan pada KCKT dari masing-masing waktu pengambilan sampel dan dielusi dengan komposisi fase gerak, kecepatan aliran dan pada panjang gelombang terpilih untuk kondisi pengujian ondansetron hidroklorida, dicatat luas puncak kromatogramnya dan dihitung konsentrasi untuk masing-masing ondansetron hidroklorida.
- c) Grafik waktu terhadap konsentrasi masing-masing sampel obat bersama kontrolnya dibuat dan dibandingkan penurunan konsentrasi masing-masing obat terhadap kontrolnya

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1. METODE ANALISIS SISPLATIN**

##### **4.1.1 Penentuan panjang gelombang maksimum untuk analisis**

Pada penelitian ini penentuan panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer ultraviolet–visibel terhadap derivat sisplatin yang diperoleh dari reaksi 100 µl sisplatin 100 ppm dengan 10 µl natrium dietilditiokarbamat 10 % dalam NaOH 0,2N selanjutnya dipanaskan diatas penangas air pada suhu 85 °C selama 10 menit, kemudian didinginkan hingga suhu kamar. Ekstraksi derivat yang terbentuk dilakukan dengan 2 ml isoamilalkohol, dan 500µl HCl 1N untuk memisahkan derivat yang larut dalam isoamilalkohol dengan dietilditiokarbamat sisa reaksi yang bersifat basa. Lapisan isoamilalkohol diukur spektrumnya pada panjang gelombang 200 – 400 nm, dan diperoleh tiga puncak panjang gelombang 344, 280 dan 249 nm. Sedangkan spektrum natrium dietilditiokarbamat 0,1 % dalam NaOH 0,2 N diperoleh tiga puncak pada panjang gelombang 284,5, 257,5 dan 219 nm. Berdasarkan perbandingan kedua spektrum dipilih panjang gelombang optimum untuk analisis adalah 344 nm. Dari penelitian yang pernah dilakukan panjang gelombang derivat sisplatin dengan dietilditiokarbamat yang digunakan adalah 303, 345, 313 dan 340 nm. Pemilihan panjang gelombang pada analisis ini untuk meningkatkan selektivitas dan sensitivitas analisis dari derivat sisplatin-dietilditiokarbamat yang terbentuk sehingga mengurangi gangguan dari sisa reaksi dietilditiokarbamat yang ikut terekstraksi bersama pelarut pengestraksi. Spektrum serapan gabungan derivat sisplatin-dietilditiokarbamat dan natrium dietilditiokarbamat dapat dilihat pada gambar 8.

##### **4.1.2 Optimasi metode sisplatin**

###### **1. Pembuatan larutan natrium dietilditiokarbamat 10%**

Larutan dietilditiokarbamat dibuat dalam NaOH 0,2 N dengan tujuan menjaga kestabilan larutan persediaan dietilditiokarbamat pada suasana basa karena senyawa dietilditiokarbamat mudah terurai pada pH asam. Suasana basa ini



akan mempermudah pengionan sisplatin sehingga mempercepat laju reaksi pembentukan derivat dan derivat yang terbentuk lebih stabil pada pH basa (Videhult, Laurell, Wallin, dan Ehrsson, 2006; Borch, 1984).

## 2. Optimasi reaksi derivatisasi sisplatin-dietilditiokarbamat

### a. Pengaruh suhu

Suhu reaksi akan mempengaruhi kecepatan laju reaksi pembentukan kompleks derivat tetapi masih dibawah titik leleh dari sisplatin ( $270^{\circ}\text{C}$ ) dan dietilditiokarbamat ( $95^{\circ}\text{C}$ ) yang direaksikan. Percobaan ini dilakukan pada suhu  $75^{\circ}$ ,  $80^{\circ}$ ,  $85^{\circ}$  dan  $90^{\circ}\text{C}$ , intensitasnya diukur pada panjang gelombang maksimum 344 nm. Berdasarkan hasil percobaan dipilih suhu optimal derivatisasi  $90^{\circ}\text{C}$  dengan intensitas 0,3383. Hasil percobaan dapat dilihat pada tabel 2 dan gambar 9.

### b. Pengaruh waktu pemanasan

Lamanya waktu reaksi akan menentukan banyaknya produk hasil reaksi yang didapatkan dan diharapkan sisplatin dapat bereaksi sempurna selama reaksi berlangsung. Diperlukan waktu tertentu untuk membentuk kompleks derivat logam-dietilditiokarbamat yang maksimal. Waktu yang dibutuhkan untuk hasil derivat maksimal tergantung jumlah dietilditiokarbamat dan suhu yang digunakan. Percobaan ini dilakukan pada suhu  $90^{\circ}\text{C}$  selama 5, 10, 15, 20 dan 25 menit, intensitas derivat diukur pada panjang gelombang maksimum 344 nm. Berdasarkan hasil percobaan dipilih waktu optimal derivatisasi 20 menit dengan intensitas 0,6584. Hasil percobaan dapat dilihat pada tabel 3 dan gambar 10.

### c. Pengaruh jumlah natrium dietilditiokarbamat terhadap pembentukan kompleks dengan sisplatin

Jumlah dietilditiokarbamat yang bereaksi dengan senyawa logam mempengaruhi intensitas serapan UV. Biasanya jumlah dietilditiokarbamat yang ditambahkan lebih dari 100 kali jumlah senyawa logam dan tergantung dari konsentrasi dietilditiokarbamat yang digunakan untuk reaksi. Percobaan ini dilakukan pada suhu  $90^{\circ}\text{C}$  selama 20 menit dengan jumlah dietilditiokarbamat 10% adalah 5, 10, 15, 20 dan 25  $\mu\text{l}$ , intensitas derivat diukur pada panjang gelombang maksimum 344 nm. Berdasarkan hasil percobaan dipilih jumlah dietilditiokarbamat 10% optimal untuk derivatisasi sebanyak 20  $\mu\text{l}$  dengan

intensitas 0,5397. Hasil percobaan dapat dilihat pada tabel 4 dan gambar 11.

### 3. Penentuan komposisi fase gerak sisplatin

Pada pemilihan fase gerak dicobakan komposisi dari asetonitril-air dengan berbagai variasi komposisi. Dari hasil percobaan menggunakan kolom Knauer<sup>®</sup> C18-RP (250 x 4,6 mm, 5 $\mu$ m) dengan panjang gelombang analisis 344 nm dan kecepatan alir 1 ml/menit pada komposisi 65:35 v/v diperoleh hasil waktu retensi 13,392 menit, untuk komposisi 75:25 v/v diperoleh waktu retensi 7,867 menit sedangkan untuk komposisi 70:30 v/v waktu retensi yang dihasilkan adalah 10,042 menit. Dari hasil waktu retensi yang dihasilkan fase gerak yang dipilih untuk analisis adalah asetonitril-air dengan komposisi 70:30 v/v, pemilihan ini juga dengan memperhatikan luas puncak, lempeng teoritis, resolusi dan faktor ikutan, dimana pada fase gerak dengan komposisi 70:30 v/v diperoleh luas puncak 251229, lempeng teoritis 17147,41, resolusi 3,79 dan faktor ikutan 1,12 yang nilainya lebih baik dibandingkan dua komposisi fase gerak lainnya. Hasil percobaan dapat dilihat pada tabel 5.

### 4. Penentuan kecepatan alir fase gerak

Pada kondisi awal kecepatan alir 1,0 ml/menit diperoleh waktu retensi 10,042 menit dengan luas puncak 202361, kemudian dicoba dengan mengubah kecepatan alir menjadi 1,2 ml/menit dan 0,8 ml/menit. Pada percobaan kecepatan alir 1,2 ml/menit diperoleh waktu retensi 8,500 menit dengan luas puncak 192405, sedangkan pada kecepatan alir 0,8 ml/menit diperoleh waktu retensi 12,517 menit dengan luas puncak 232503. Dari hasil percobaan dengan memperhatikan waktu retensi, luas puncak, jumlah lempeng teoritis, resolusi dan faktor ikutan dipilih kecepatan alir 0,8 ml/menit, dimana diperoleh luas puncak 232503, lempeng teoritis 19086,13, resolusi 4,01 dan faktor ikutan 1,13. Hasil percobaan dapat dilihat pada tabel 6.

### 5. Uji selektifitas

Selektivitas atau spesifisitas adalah kemampuan untuk mengukur analit yang dituju secara tepat dan spesifik dengan adanya komponen-komponen lain dalam sampel seperti ketidakh murnian, produk degradasi, dan komponen lainnya.

Uji ini dilakukan pada larutan baku sisplatin dan sampel injeksi sisplatin dalam campuran infus NaCl 0,9% dan ondansetron HCl yang didiamkan selama 24 jam pada suhu kamar. Dari hasil kromatogram kedua larutan uji tidak ditemukan munculnya puncak baru yang mengganggu disekitar waktu retensi derivat sisplatin pada larutan uji campuran sisplatin dan ondansetron HCl. Hal ini disebabkan oleh pemilihan panjang gelombang yang selektif terhadap derivat sisplatin dan ekstraksi derivat menggunakan isoamilalkohol serta penambahan HCl 1 N sebanyak 500 µl untuk memisahkan sisa reaksi yang polar dari dalam emulsi isoamilalkohol. Kromatogram selektifitas derivat sisplatin dapat dilihat pada gambar 12.

#### 6. Uji efisiensi pelarut ekstraksi

Efisiensi pelarut ekstraksi derivat sisplatin yang terbentuk dengan membandingkan luas puncak yang diperoleh dari pelarut isoamilalkohol dan kloroform sebagai perolehan kembali yang lebih tinggi. Dari kedua pelarut yang digunakan diperoleh perbandingan luas puncak sebesar 60,230 % pada isoamilalkohol terhadap kloroform sebagai 100 % yang selanjutnya digunakan sebagai pelarut ekstraksi derivat (tabel 7). Hal ini berbeda dengan Minakata, Hideki, Naoko dan Osamu (2006) yang memperoleh efisiensi ekstraksi isoamilalkohol dan kloroform adalah 100 dan 20 % berurutan menggunakan ESI-MS dengan pemanasan 280 °C dan tekanan gas nitrogen 68 Psi. Kromatogram perbandingan terlihat pada gambar 13 yang menunjukkan adanya puncak dibelakang puncak utama derivat sisplatin-dietilditiokarbamat yang menggunakan pelarut isoamilalkohol dan tidak terlihat pada kloroform. Munculnya puncak pada isoamilalkohol dimungkinkan derivat tidak stabil saat evaporasi pada suhu 85 °C dengan tekanan 15 Psi selama 40 menit, sedangkan kloroform dievaporasi dengan suhu 60 °C tekanan 2 Psi selama 10 menit. Pemilihan kloroform sebagai pelarut pengestraksi karena kelarutannya lebih kecil dalam pelarut polar yang bersifat basa dibandingkan isoamilalkohol sehingga hanya sedikit diperlukan penambahan asam (200 µl HCl 1 N) untuk memecah emulsi sisa larutan reaksi dari kloroform. Penambahan asam yang terlalu tinggi akan mempengaruhi kestabilan derivat yang diekstraksi.

### 4.1.3 Validasi metode analisis sisplatin

#### 1. Pembuatan kurva kalibrasi

Kurva kalibrasi merupakan gambaran hubungan antara respon instrumen dan analit dengan konsentrasi yang diketahui. Jumlah larutan baku yang digunakan pada kurva kalibrasi merupakan fungsi dari rentang konsentrasi yang akan ditentukan dalam sampel, termasuk didalamnya adalah nilai LOD dan LOQ. Dari percobaan dalam NaCl 0,9 % dengan rentang konsentrasi 20 - 140 ppm dapat diperoleh kurva kalibrasi dengan persamaan regresi :  $Y = 9340,34643 X - 46216,85714$  dengan koefisien korelasi :  $r = 0,9994$ . Hasil penentuan kurva kalibrasi tercantum pada tabel dan gambar 14. Linearitas dari kurva kalibrasi juga dilihat dengan menghitung koefisien variasi dari fungsi regresi ( $V_{xo}$ ). Menggunakan perangkat lunak komputer *microsoft office excel* didapat  $V_{xo} = 1,502 \%$ . Untuk metode analisis dalam sediaan farmasi kriteria linieritas dipenuhi dengan nilai koefisien variasi dari fungsi regresi ( $V_{xo}$ )  $\leq 2 \%$ , sehingga kurva kalibrasi yang diperoleh telah memenuhi persyaratan. Contoh perhitungan tercantum pada lampiran 2.

#### 2. Penentuan batas kuantitasi (LOQ) dan batas deteksi (LOD)

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi. Batas kuantifikasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan. LOD dan LOQ dihitung berdasarkan pada simpangan baku residual  $S(y)$  dan kemiringan (*slope, b*) kurva baku sesuai dengan rumus  $LOD = 3 (S(y) / b)$  dan  $LOQ = 10(S(y) / b)$ , dari perhitungan perangkat lunak komputer didapatkan LOD sebesar 3,606 ppm dan LOQ sebesar 12,019 ppm.

#### 4. Uji presisi dan akurasi

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari

campuran yang homogen. Akurasi adalah kedekatan hasil penetapan yang diperoleh dengan hasil yang sesungguhnya, akurasi diperiksa dengan menghitung perbedaan nilai yang terukur dengan nilai sebenarnya (% diff). Uji presisi dan akurasi ini dilakukan intra-hari dan inter-hari pada konsentrasi rendah (73,9 ppm), sedang (92,42 ppm) dan tinggi (110,9 ppm). Dari hasil uji presisi dan akurasi yang dilakukan diperoleh koefisien variasi (RSD) 0,748 % dengan % diff sebesar  $\pm 0,067$  % untuk konsentrasi rendah, pada konsentrasi sedang 0,578 % dengan % diff sebesar  $\pm 4,110$  % dan pada konsentrasi tinggi 1,697% dengan % diff sebesar  $\pm 6,619$  %. Pada percobaan inter-hari sebagai uji ketangguhan metode dilakukan sampai rentang lima hari diperoleh hasil koefisien variasi rata-rata  $\pm 1,681$  % dengan % diff rata-rata sebesar  $\pm 0,697$  % untuk konsentrasi rendah, konsentrasi sedang  $\pm 1,822$  % dengan % diff rata-rata  $\pm 4,387$  % dan pada konsentrasi tinggi  $\pm 1,515$  % dengan % diff rata-rata  $\pm 4,996$  %. Nilai koefisien variasi (RSD) yang dipersyaratkan untuk senyawa-senyawa aktif dalam jumlah yang banyak antara 1-2 %. Data hasil percobaan tercantum dalam tabel 9 dan 10.

#### 5. Uji perolehan kembali

Uji perolehan kembali dilakukan untuk mengetahui perbandingan respon detektor analit yang diekstraksi dari sampel dengan respon detektor kadar yang sebenarnya dari standar murni. Batas uji perolehan kembali yang dipersyaratkan untuk suatu metode analisis dalam sediaan farmasi berkisar antara 98–102 %. Uji perolehan kembali dilakukan pada tiga konsentrasi berbeda yaitu, konsentrasi rendah (73,9 ppm), sedang (92,42 ppm) dan tinggi (110,9 ppm). Nilai uji perolehan kembali pada konsentrasi rendah berkisar 96,87-105,43 %, konsentrasi sedang 99,50-107,21% dan konsentrasi tinggi berkisar 98,01-100,57%. Pengujian perolehan kembali ini dilakukan pada tiga konsentrasi dengan tujuan untuk memberikan batas kisaran konsentrasi analit yang terukur pada daerah tersebut menunjukkan reproduktibilitas yang tinggi. Hasil percobaan dapat dilihat pada tabel 11.

#### 6. Uji kestabilan derivat hasil reaksi sisplatin dengan dietilditiokarbamat

Pengujian stabilitas derivat dilakukan pada suhu kamar selama 24 jam, pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan stabilitas derivat dalam pelarut fase gerak bila disimpan pada suhu kamar. Penentuan stabilitas derivat

juga bertujuan untuk mencari tahu pada tahap mana derivat disimpan sebelum dianalisis, mengingat campuran sisplatin dan ondansetron harus di analisis langsung setiap waktu pengamatan menggunakan metode yang berbeda masing-masingnya. Dari hasil pengujian yang dilakukan pada konsentrasi 92,42 ppm, terjadi penurunan konsentrasi derivat setiap waktu dari 30 menit sampai 24 jam. Kondisi penyimpanan derivat dipilih setelah penambahan kloroform pada suhu 2-8 °C untuk menghentikan reaksi derivatisasi dan menjaga kestabilan derivat yang terbentuk dalam larutan. Hasil percobaan dapat dilihat pada gambar 15 dan tabel 12.

## **4.2. METODE ANALISIS ONDANSETRON HCl DIHIDRAT**

### **4.2.1 Penentuan panjang gelombang maksimum untuk analisis**

Pada penelitian ini penentuan panjang gelombang maksimum ondansetron HCl menggunakan spektrofotometer ultra violet–visibel, diperoleh tiga puncak pada panjang gelombang 311, 268, 249 dan 210 nm. Berdasarkan hasil percobaan dipilih panjang gelombang optimum untuk analisis adalah 249 nm, dari penelitian yang pernah dilakukan panjang gelombang yang digunakan adalah 225, 249 dan 305 nm. Pemilihan panjang gelombang pada analisis ini guna meningkatkan selektifitas dan sensitifitas analisis ondansetron HCl dalam campuran sampel. Spektrum serapan ondansetron HCl dapat dilihat pada gambar 16.

### **4.2.2 Optimasi metode ondansetron HCl**

#### **1. Penentuan komposisi fase gerak ondansetron HCl dihidrat**

Metode untuk analisis ondansetron HCl ini diadopsi dari metode yang dikembangkan oleh Kupiec, Kostuck dan Vu (9 Agustus 2008) yang menggunakan kolom C18 (15 cm x 4,6 mm, 5 µm). Sebagai fase gerak digunakan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  20 mM (pH 7) dan asetonitril (75:25 %v/v) dengan kecepatan alir 1,8 ml/menit. Pada penelitian ini dicobakan pemilihan fase gerak yang sama dengan berbagai variasi komposisi dengan perbedaan ukuran panjang kolom yang digunakan. Dari hasil percobaan menggunakan kolom Sunfire Waters® C18-RP (250 x 4,6 mm, 5µm) dengan panjang gelombang analisis 249 nm dan kecepatan alir 2 ml/menit pada komposisi 20:80 v/v diperoleh hasil waktu retensi 33,475 menit, untuk komposisi 25:75 v/v diperoleh waktu retensi 15,492 menit

sedangkan untuk komposisi 30:70 v/v waktu retensi yang dihasilkan adalah 9,133 menit. Dari hasil waktu retensi yang dihasilkan fase gerak yang dipilih untuk analisis adalah asetonitril-kalium dihidrogen fosfat 0,02 M pH 7 dengan komposisi 25:75 v/v, pemilihan ini juga dengan memperhatikan luas puncak, lempeng teoritis dan faktor ikutan, dimana pada fase gerak dengan komposisi 25:75 v/v diperoleh luas puncak 604981, lempeng teoritis 11488,91 dan faktor ikutan 1,79 yang nilainya lebih baik dibandingkan dua komposisi fase gerak lainnya. Hasil percobaan dapat dilihat pada tabel 13.

## 2. Penentuan kecepatan alir fase gerak

Pada kondisi awal kecepatan alir 2 ml/menit diperoleh waktu retensi 15,492 menit dengan luas puncak 604981, kemudian dicoba dengan mengubah kecepatan alir menjadi 2,2 ml/menit dan 1,8 ml/menit. Pada percobaan kecepatan alir 2,2 ml/menit diperoleh waktu retensi 14,656 menit dengan luas puncak 474351, sedangkan pada kecepatan alir 1,8 ml/menit diperoleh waktu retensi 19,133 menit dengan luas puncak 671566. Dari hasil percobaan dengan memperhatikan waktu retensi, luas puncak, jumlah lempeng teoritis dan faktor ikutan dipilih kecepatan alir 2 ml/menit, dimana diperoleh lempeng teoritis 11488,91 dan faktor ikutan 1,79 yang nilainya lebih baik dibandingkan dua kecepatan alir fase gerak lainnya. Hasil percobaan dapat dilihat pada tabel 14.

## 3. Uji kekuatan dapar

Kekuatan dapar merupakan ukuran kekuatan pengendalian pH fase gerak terhadap analit sepanjang lintasan kolom. Kekuatan dapar yang lemah tidak dapat mengendalikan pH fase gerak. pH fase gerak yang tidak stabil akan berpengaruh pada kekompakan analit dalam fase gerak dan menyebabkan melebarnya puncak analit pada kromatogram. Pada percobaan kekuatan dapar fosfat 0,02 M (pH7) diperoleh faktor ikutan 1,83, waktu retensi 15,633 menit dengan luas puncak 522350 dan jumlah lempeng teoritis 5081,24, sedangkan dapar 0,05 M (pH7) diperoleh faktor ikutan 1,79, waktu retensi 15,983 menit dengan luas puncak 534452 dan jumlah lempeng teoritis 5477,33. Dari hasil percobaan dipilih kekuatan dapar fosfat 0,05 M yang lebih kuat mempertahankan kestabilan pH fase gerak pada suhu kolom 40 °C dan ukuran kolom 25 cm. Hasil percobaan

dapat dilihat pada tabel 15.

#### 4. Uji selektifitas ondansetron HCl

Selektifitas atau spesifisitas adalah kemampuan untuk mengukur analit yang dituju secara tepat dan spesifik dengan adanya komponen-komponen lain dalam sampel seperti ketidakmurnian, produk uraian, dan komponen lainnya. Uji ini dilakukan pada larutan baku ondansetron HCl, sampel injeksi ondansetron HCl tunggal dan sampel injeksi ondansetron HCl dalam campuran infus NaCl 0,9% sisplatin yang didiamkan selama 24 jam pada suhu kamar. Dari hasil kromatogram ketiga larutan uji diperoleh waktu retensi baku ondansetron HCl 15,083 menit tidak ditemukan munculnya puncak baru yang mengganggu disekitar waktu retensi ondansetron HCl (gambar 16). Pada sampel injeksi dosis tunggal muncul puncak pada 0,833 menit, 6,108 menit luas puncak sebesar 25956 dan waktu retensi ondansetron HCl 14,600 menit (gambar 17). Pada campuran ondansetron HCl dengan sisplatin didapatkan waktu retensi ondansetron HCl 15,083 menit, produk uraian ondansetron juga muncul pada waktu retensi 0,833; 2,958; 3,192 dan 3,392 menit, serta puncak uraian dari sampel ondansetron HCl pada 6,550 menit semakin luas karena pengaruh campuran sisplatin (gambar 18).

#### 4.2.3 Validasi metode analisis ondansetron HCl dihidrat

##### 1. Pembuatan kurva kalibrasi

Kurva kalibrasi merupakan gambaran hubungan antara respon instrumen dan analit dengan konsentrasi yang diketahui. Jumlah larutan baku yang digunakan pada kurva kalibrasi merupakan fungsi dari rentang konsentrasi yang akan ditentukan dalam sampel, termasuk didalamnya adalah nilai LOD dan LOQ. Dari percobaan dalam NaCl 0,9 % dengan rentang konsentrasi 5 - 100 ppm dapat diperoleh kurva kalibrasi dengan persamaan regresi :  $Y = 29406,577 + 665197,143X$  dengan koefisien korelasi :  $r = 0,9992$ . hasil penentuan kurva kalibrasi tercantum pada tabel 16 dan gambar 20. Linearitas dari kurva kalibrasi juga dilihat dengan menghitung koefisien variasi dari fungsi regresi ( $V_{xo}$ ). Menggunakan perangkat lunak komputer *microsoft office excel* didapat  $V_{xo} = 2,232$  %. Untuk metode analisis dalam sediaan farmasi kriteria linieritas dipenuhi dengan nilai koefisien variasi dari fungsi regresi ( $V_{xo} \leq 2$  %). Contoh



perhitungan tercantum pada lampiran 2.

## 2. Penentuan limit kuantitasi (LOQ) dan batas deteksi (LOD)

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi. Batas kuantifikasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan. LOD dan LOQ dihitung berdasarkan pada simpangan baku residual  $S(y)$  dan kemiringan (*slope, b*) kurva baku sesuai dengan rumus  $LOD = 3 (S(y) / b)$  dan  $LOQ = 10(S(y) / b)$ , dari perhitungan perangkat lunak komputer didapatkan LOD sebesar 3,404 ppm dan LOQ sebesar 11,345 ppm.

## 3. Uji presisi dan akurasi

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Akurasi adalah kedekatan hasil penetapan yang diperoleh dengan hasil yang sesungguhnya, akurasi diperiksa dengan menghitung perbedaan nilai yang terukur dengan nilai sebenarnya (% diff). Uji presisi dan akurasi ini dilakukan intra-hari dan inter-hari pada konsentrasi rendah (25 ppm), sedang (50 ppm) dan tinggi (75 ppm). Dari hasil uji presisi dan akurasi yang dilakukan intra-hari diperoleh koefisien variasi (RSD) 1,343 % dengan % diff sebesar  $\pm 15,514$  % untuk konsentrasi rendah, pada konsentrasi sedang 1,102 % dengan % diff sebesar  $\pm 7,884$  % dan pada konsentrasi tinggi 0,074 % dengan % diff sebesar  $\pm 6,383$  %. Pada percobaan inter-hari sebagai uji ketangguhan metode dilakukan sampai rentang lima hari diperoleh hasil koefisien variasi rata-rata  $\pm 1,438$  % dengan % diff rata-rata sebesar  $\pm 6,292$  % untuk konsentrasi rendah, konsentrasi sedang  $\pm 2,093$  % dengan % diff rata-rata  $\pm 2,820$  % dan pada konsentrasi tinggi  $\pm 1,202$  % dengan % diff rata-rata  $\pm 5,434$  %. Nilai koefisien variasi (RSD) yang dipersyaratkan untuk senyawa-senyawa aktif dalam jumlah yang banyak antara 1-2 %. Data hasil percobaan tercantum dalam tabel 17 dan 18.

## 5. Uji perolehan kembali

Uji perolehan kembali dilakukan untuk mengetahui perbandingan respon detektor analit yang diekstraksi dari sampel dengan respon detektor kadar yang sebenarnya dari standar murni. Batas uji perolehan kembali yang dipersyaratkan untuk suatu metode analisis dalam sediaan farmasi berkisar antara 98–102 %. Uji perolehan kembali dilakukan pada tiga konsentrasi berbeda yaitu, konsentrasi rendah (47,32 ppm), sedang (59,15 ppm) dan tinggi (70,98 ppm). Nilai uji perolehan kembali pada konsentrasi rendah berkisar 96,87-105,43 %, konsentrasi sedang 100,65-101,996 % dan konsentrasi tinggi berkisar 98,01-100,57 %. Pengujian perolehan kembali ini dilakukan pada tiga konsentrasi dengan tujuan untuk memberikan batas kisaran konsentrasi analit yang terukur pada daerah tersebut menunjukkan reproduktibilitas yang tinggi. Hasil percobaan dapat dilihat pada tabel 19.

### **4.3. Penentuan uji stabilitas kimia sisplatin dan ondansetron dalam larutan infus NaCl 0,9 % selama 24 jam.**

Tujuan dilakukannya aplikasi metode pada uji stabilitas campuran larutan infus untuk melihat sensitifitas dan selektifitas metode analisis untuk masing-masing bahan aktif sisplatin maupun ondansetron HCl. Pengujian stabilitas dan kompatibilitas campuran larutan parenteral dilakukan dengan melihat perubahan potensi atau kestabilan kimia dari campuran obat, perubahan ini tidak dapat diamati secara visual. Kestabilan dalam campuran atau produk dari obat tidak kurang dari 90 % dari potensi aslinya selama pemberian campuran. Kapasitas campuran obat antikanker dengan antiemetik dalam satu larutan infus kombinasi kemoterapi pada satu lokasi pemberian memberikan keuntungan pada penanganan kemoterapi bagi kenyamanan pasien. Bagaimanapun pemberian campuran kombinasi memberikan metode yang optimal untuk penghantaran multi obat kemoterapi dalam pengaturan pada penghantaran obat secara infus yang kontinu selama 24 jam atau lebih. Hal ini dapat dilakukan dengan memperhatikan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kestabilan dan kompatibilitas dari komponen campuran, seperti pH stabilitas, kelarutan, pengaruh cahaya dan suhu ruangan perlakuan.

#### 4.3.1 Penentuan uji stabilitas kimia sisplatin dalam campuran infus ondansetron HCl selama 24 jam

Larutan injeksi sisplatin 92,42 ppm tunggal dan 92,42 ppm dalam campuran larutan infus NaCl 0,9 % bersama ondansetron HCl 59,15 ppm. Semua sampel disimpan pada suhu 27 °C dibawah cahaya ruangan normal. Sampel diamati dan dianalisis dengan metode yang sudah divalidasi setiap waktu pengamatan mulai 0, 30, 60, 90, 120 menit, 4, 6, 8, 16 dan 24 jam.

Stabilitas fisika larutan yang diamati secara kasat mata tidak ada terlihat perubahan warna larutan maupun pengendapan dari kedua larutan uji sisplatin. Pengujian pH pada setiap waktu pengamatan terjadi penurunan pH larutan sisplatin awal 5,4 sampai 5,19 selama 1,5 jam pertama dan relatif konstan hingga 24 jam. Perubahan pH diikuti penurunan konsentrasi sebesar 3,91 % (dari 97,542 – 93,725 ppm) hingga 2 jam pertama serta penurunan konsentrasi sisplatin kurang dari 10% dari konsentrasi awal sisplatin hingga 24 jam pada larutan sisplatin tunggal. Hasil dapat dilihat pada tabel 20 dan gambar 21.

Stabilitas campuran sisplatin dengan ondansetron dalam larutan infus NaCl 0,9% terjadi penurunan pH larutan awal pencampuran 4,43 menjadi 3,8 setelah 2 jam dan relatif konstan selama 24 jam. Perubahan pH ini diikuti penurunan konsentrasi sisplatin awal pencampuran 96,899 ppm dibandingkan pada sisplatin tunggal 97,542 ppm, terjadi penurunan konsentrasi sebesar 0,66% diawal pencampuran sisplatin dan ondansetron. Konsentrasi sisplatin dalam campuran mengalami penurunan hingga 6,39% (96,899 – 89,768 ppm) dan penurunan konsentrasi sisplatin yang dipengaruhi oleh ondansetron HCl sekitar 4,22 % dari 93,725 menjadi 89,768 ppm setelah 2 jam dibandingkan terhadap konsentrasi sisplatin tunggal. Perbandingan penurunan sisplatin tunggal dan campurannya dengan ondansetron dapat dilihat pada gambar 21. Potensi optimal sisplatin dalam campuran ondansetron HCl selama 6 jam yang memberikan penurunan potensi sekitar 8,77% dari konsentrasi awal sisplatin tunggal. Penurunan konsentrasi sisplatin yang dipengaruhi oleh ondansetron dalam campuran larutan infus NaCl 0,9% sebesar 7,85% setelah 24 jam. Hasil dapat dilihat pada tabel 21 dan gambar 21.

#### 4.3.2 Penentuan uji stabilitas kimia ondansetron HCl dalam campuran infus sisplatin selama 24 jam.

Larutan injeksi ondansetron HCl 59,15 ppm tunggal dan 59,15 ppm dalam campuran larutan infus NaCl 0,9 % bersama sisplatin 92,42 ppm. Semua sampel yang disimpan pada suhu 27 °C dibawah cahaya ruangan normal. Sampel diamati dan dianalisis dengan metode yang sudah divalidasi setiap waktu pengamatan mulai 0, 30, 60, 90, 120 menit, 4, 6, 8, 16 dan 24 jam.

Stabilitas fisika larutan yang diamati secara kasat mata tidak ada terlihat perubahan warna larutan maupun pengendapan dari kedua larutan uji ondansetron HCl. Pengujian pH pada setiap waktu pengamatan tidak ada perubahan pH yang berarti dari larutan ondansetron HCl tunggal selama 24 jam. Penentuan konsentrasi ondansetron HCl setiap waktu pengamatan dengan metode KCKT yang sudah divalidasi memberikan data konsentrasi ondansetron selama 24 jam relatif stabil dalam larutan infus NaCl 0,9% tanpa adanya penurunan potensi yang cukup berarti. Pada kromatogram ondansetron ada munculnya tambahan puncak pada waktu retensi 6, 55 menit. Hasil dapat dilihat pada tabel 22 dan gambar 22.

Stabilitas campuran ondansetron HCl dengan sisplatin dalam larutan infus NaCl 0,9% terjadi kenaikan pH larutan ondansetron HCl dari 3,91 pada ondansetron tunggal menjadi 4,43 pada awal pencampuran dengan sisplatin dan tidak ada perubahan yang signifikan pH stabilitas larutan ondansetron selama 24 jam. Pengujian konsentrasi ondansetron HCl dalam campuran sisplatin didapat data pada tabel 23. Konsentrasi ondansetron HCl pada awal pencampuran sebesar 63,145 ppm dengan perolehan kembali  $\pm 106,75$  % terhadap konsentrasi teoritis 59,15 ppm. Konsentrasi ondansetron berkurang sebesar 7,17 % selama 4 jam penurunan konsentrasi awal 63,145 ppm menjadi 58,617 ppm. Penurunan konsentrasi ondansetron yang dipengaruhi oleh campuran dengan sisplatin setelah 4 jam pertama sampai 24 jam berkurang sampai  $\pm 12,90$  %. Pada kromatogram ondansetron puncak pada waktu retensi 6, 55 menit semakin luas. Perbandingan kestabilan ondansetron dalam larutan infus NaCl 0,9% dengan campuran sisplatin dapat dilihat pada gambar 22.

Kombinasi campuran sisplatin dan ondansetron HCl dalam larutan infus NaCl 0,9% stabil dan kompatibel selama 4 jam pemberian tanpa hilangnya potensi

dari kedua komponen obat. Penurunan potensi kurang dari 10 % dari masing-masing obat terhadap konsentrasi awalnya dengan penurunan konsentrasi 8,77% dan 7,17 % untuk sisplatin dan ondansetron HCl berurutan.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1. KESIMPULAN**

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Pengembangan metode kromatografi cair kinerja tinggi untuk analisis penetapan kadar sisplatin yang diderivatisasi dengan natrium dietilditiokarbamat dapat meningkatkan selektifitasnya pada detektor Uv. Sisplatin diderivatisasi dengan 20µl dietilditiokarbamat 10% pada suhu 90 °C selama 20 menit diekstraksi dengan 2ml kloroform dan dideteksi pada panjang gelombang 344 nm. Kompleks sisplatin-dietilditiokarbamat dielusi menggunakan fase gerak asetonitril-air (70:30 %v/v) dengan kecepatan alir 0,8 ml/menit pada kolom Knauer<sup>®</sup> C18-RP (250 x 4,6 mm, 5µm). Kurva kalibrasi linier pada kisaran konsentrasi 20 sampai 140 ppm dengan koefisien korelasi  $r = 0,9994$  serta batas deteksi (LOD) 3,606 ppm. Koefisien variasi intra-hari dan inter-hari rata-rata  $< 2 \%$  serta perolehan kembali  $> 90 \%$  pada semua tingkat konsentrasi pengujian.
2. Kadar ondansetron hidroklorida dalam campuran larutan infus bersama sisplatin dapat ditentukan secara kuantitatif menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi dengan kolom Sunfire Waters<sup>®</sup> C18-RP (25 cm x 4,6 mm, 5 µm).  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  50 mM (pH 7) dan asetonitril (75:25 %v/v) digunakan sebagai fase gerak dengan kecepatan alir 2 ml/menit dan dideteksi pada panjang gelombang 249 nm. Kurva kalibrasi metode analisis ondansetron hidroklorida linier pada kisaran 5 sampai 100 ppm dengan batas deteksi (LOD) 3,404 ppm. Presisi intra-hari dan inter-hari dengan koefisien variasi rata-rata  $\leq 2 \%$ , serta perolehan kembali  $> 95 \%$  pada semua tingkatan konsentrasi pengujian.
3. Campuran kombinasi sisplatin dengan ondansetron HCl dalam larutan infus NaCl 0,9% stabil selama 4 jam dengan penurunan potensi  $< 10 \%$  dari kedua komponen obat. Pemberian campuran kombinasi ini dapat jadi alternatif efisiensi rute pemberian untuk meningkatkan kenyamanan pasien selama menjalani pengobatan kemoterapi kanker.

## **5.2. SARAN**

Pada peneliti selanjutnya diharapkan untuk melakukan penelitian dengan menggunakan pelarut dan pereaksi yang berbeda untuk mendapatkan metode analisis sisplatin dan ondansetron HCl yang handal agar lebih dapat memenuhi semua parameter validasi metode secara statistik pada pengujian sisplatin dan ondansetron HCl dalam sampel sediaan farmasi.

## Daftar pustaka

1. Mcevoy GK.(ed): AHFS Drug Information. ASHP, Bethesda, Maryland, 2002; 937-954, 2806-2813.
2. Tanihata, Sachiko., Hiroaki Igarashi, Masami Suzuki and Toshimitsu Uchiyama. Cisplatin-Induced Early and Delayed Emesis in the Pigeon. *Br J Pharmacol*, 2000, **130**, 132 - 138.
3. Schnell, Frederick M. Chemotherapy-Induced Nausea And Vomiting : The Importance of Acute Antiemetic Control. *The Oncologist*, 2003; **8**: 187-198.
4. ASHP therapeutic guidelines on the pharmacologic management of nausea and vomiting in adult and pediatric patients receiving chemotherapy radiation therapy or undergoing surgery. *AmJ Health-Syst Pharm*. 1999; **56**: 729-64.
5. Castejon, Ana M., Ximena Paez, Luis Hernandez, and Luigi X. Cubeddu. Use of Intravenous Microdialysis to Monitor Changes in Serotonin Release and Metabolism induced by Cisplatin in Cancer Patients: Comparative Effects of Granisetron and Ondansetron. *J Pharmacol Exp Ther*, 1999; **291**: 960–966.
6. Olver. I, W. Paska, A. Depierre, J. F. Seitz, D. J. Stewart, L. Goedhals, B. McQuade, J. McRae and J. R. Wilkinson. A Multicentre, Double-Blind Study Comparing Placebo, Ondansetron and Ondansetron Plus Dexamethasone for the Control of Cisplatin-Induced Delayed Emesis. *Annals of Oncology*, 1996, **7**: 945-952.
7. Bosso, JA., RA. Prince and JL. Fox. Stability of Ondansetron Hydrochloride in Injectatable Solutions at -20, 5, and 25 °C. *AmJ Hospital Pharm*, Abstract, 1992, **49**, 2223-2225.
8. Sweetman, Sean C., editor. Martindale ; *The complete drug refence*. 34<sup>th</sup> ed. Pharmaceutical press. 2005 : 492-525; 1245-1246; 1281-1282; 538-539.
9. Trissel, Lawrence A and Yanping Zhang. Physical and Chemical Stability of Palonosetron HCl with Cisplatin, Carboplatin, and Oxaliplatin



- During Simulated Y-site Administration. *J Oncol Pharm Practice*, 2004. **10**: 191-195
10. Canada JR, editor. *The United States Pharmacopoeia USP 28*, Rockville, 2005.
  11. Komatsu, R., M. Orhan-Sungur, J. In, T. Podranski, T. Bouillon, R. Lauber, S. Rohrbach and D. Sessler. Ondansetron does not Reduce the Shivering Threshold in Healthy Volunteers. *Br J Anaesth*, 2006. **96** (6): 732–738
  12. Xiaohui Xu, Michael G. Bartlett and James and T. Stewart. Determination of Ondansetron and its Hydroxy Metabolites in Human Serum Using solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography / Positive Ion Electrospray Tandem Mass Spectrometry. [http://www.interscience.wiley.com/journal/75502494/abstract?CRET\\_RY=1&SRETRY=0](http://www.interscience.wiley.com/journal/75502494/abstract?CRET_RY=1&SRETRY=0). pada tanggal 28 juli 2008, pukul 19:36 WIB.
  13. Chandrasekar D , Ramakrishna S, and Diwan PV. A Rapid, Sensitive and Validated Method for the Determination of Ondansetron in Human Plasma by Reversed-phase High-pressure Liquid Chromatography. *Arzneimittelforschung*. Abstract. 2004; **54(10)**: 655-9.
  14. Kupiec, T., R. Kostuck and N. Vu. Development and Validation of Stability Indicating Method for Ondansetron by HPLC. [www.aapsj.org/abstracts/AM\\_2004/AAPS2004-003358.PDF](http://www.aapsj.org/abstracts/AM_2004/AAPS2004-003358.PDF). pada 9 Agustus, 2008. pukul 15:23 WIB
  15. Sutariya, and V. R. Mashru. Determination of Ondansetron Hydrochloride in Rabbit Plasma by High-Performance Liquid Chromatography: Validation and Application to Pharmacokinetic Studies. [www.aapspharmsci.org/abstracts/AM\\_2006/AAPS2006-001633.pdf](http://www.aapspharmsci.org/abstracts/AM_2006/AAPS2006-001633.pdf) . pada 9 agustus, 2008. pukul 15:30 WIB.
  16. Minakata, Kayoko. Hideki Nozawa, Naoko Okamoto and Osamu Suzuki. Determination of Platinum Derived from Cisplatin in Human Tissues Using Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *J Chromatography*, 7 March 2006, **832**, Issue 2, Pages 286-291
  17. Min Meng, Ryan Kuntz, Al Fontanet, and Patrick K. Bennett; A Novel Approach to Quantify Unbound Cisplatin, Carboplatin, and

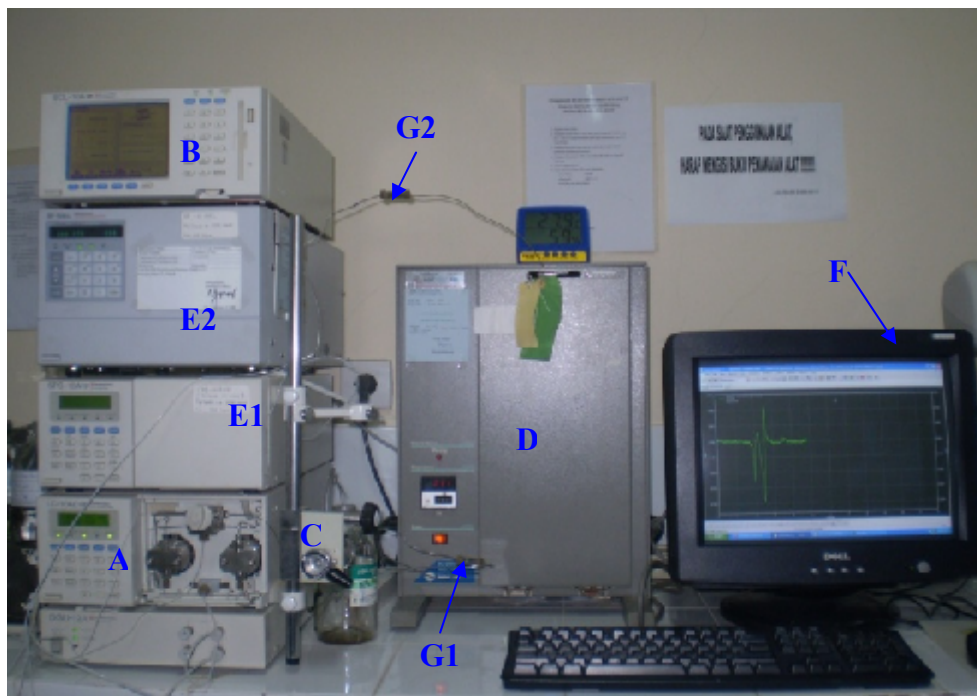
- Oxaliplatin in Human Plasma Ultrafiltrate by Measuring Platinum-DDTC Complex Using LC/MS/MS. *ASMS Conference*, Seattle, WA. 2006.
18. Andrews PA, Wung WE, and Howell SB. A High-Performance Liquid Chromatographic Assay with Improved Selectivity for Cisplatin and Active Platinum (II) Complexes in Plasma Ultrafiltrate. *Anal Biochem. Abstract*, 1984 Nov 15; **143(1)**:46-56.
  19. Raghavan R, Burchett M, Loffredo D, and Mulligan JA. Low-level (PPB) Determination of Cisplatin in Cleaning Validation (rinse water) Samples. II. A High-Performance Liquid Chromatographic Method. *Drug Dev Ind Pharm. abstract. 2000 Apr*; **26(4)**:429-40.
  20. Videhult, Pernilla. Goran Laurell, Inger Wallin, and Hans Ehrsson. Kinetics of Cisplatin and Its Monohydrated Complex with Sulfur-Containing Compounds Designed for Local Otoprotective Administration. *Exp Biol Med*, 2006. **231**:1638–1645.
  21. Steven L. Gonias, Anne C. Oakley, Philip J. Walther, and Salvatore V. Pizzo. Effects of Diethyldithiocarbamate and Nine Other Nucleophiles on the Intersubunit Protein Cross-Linking and Inactivation of Purified Human  $\alpha_2$ -Macroglobulin by cis-Diamminedichloroplatinum(II). *Cancer Research*. December 1984. **44**, 5764-5770,.
  22. Cisplatin and its Analogues (excellent detailed overview). <http://www.mrc-lmb.cam.ac.uk/personal/sl/Html/Frames.html>, pada 9 Agustus, 2008. pukul 19:23 WIB
  23. cis-Diammineplatinum(II) dichloride product information. Sigma-Aldrich, Inc. ARO/MAM 5/07, pada 9 Agustus 2008 pukul 19:25 WIB
  24. Mok, Tony S. K., Sarath Kanekal, Xiao Rong Lin, Thomas W. T. Leung, Anthony T. C. Chan, Winnie Yeo, Simon Yu, Karen Chak, Rich Leavitt, and Philip Johnson,. Pharmacokinetic Study of Intralesional Cisplatin for the Treatment of Hepatocellular Carcinoma. *Cancer*. June 15, 2001 , **91(12)**.
  25. Takada K., Kawamura T., Inai M., Masuda S., Oka T., Yoshikawa Y., Shibata N., Yoshikawa H., Ike O., Wada H. and Hitomi S.,

- Pharmacokinetics of Cisplatin in Analbuminemic Rats. *Biopharm Drug Dispos.* 1999, **20**: 421-428.
26. Gamelin E., Allain P., Maillart P., Turcant A., Delva R., Lortholary A. and Larra F., Long-term Pharmacokinetics Behavior of Platinum After Cisplatin Administration. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1995, **37(1-2)**: 97-102.
  27. Smith, Andri. *Cisplatin: The Invention of an Anticancer Drug*, <http://chemcases.com/cisplat/index.htm> , pada 9 Agustus, 2008. pukul 19:23 WIB
  28. Takahara, Patricia M., Frederik, Christin A., and Stephen J Lippard. Crystal Structure of the Anticancer Drug Cisplatin Bound to Duplex DNA. *American Chemi Socie*, 1996; **118**; 12309-12321.
  29. Malina, Jaroslav. Ctirad Hofr, Luciana Maresca, Giovanni Natile, and Viktor Brabec. DNA Interactions of Antitumor Cisplatin Analogs Containing Enantiomeric Amine Ligands; *Biophysical Journal*, April 2000, **78**, 2008–2021.
  30. Huang, Huifang., Woo, Jinsuk., Ally, Stephen C. and Paul B Hopkins. DNA-DNA Interstrand Cross-Linking by cis-Diamminedichloroplatinum(II): N7(dG)-to-N7(dG) Cross-Linking at 5'd(GC) in Synthetic Oligonucleotides. *Bioorganic & Medical Chemistry*; 1995, **3**; 659-669.
  31. Scheeff, Eric D. James M. Briggs, and Stephen B. Howell, Molecular Modeling of the Intrastrand Guanine-Guanine DNA Adducts Produced by Cisplatin and Oxaliplatin, *Mole Pharmacol*, 1999. **56**: 633–643 .
  32. National Comprehensive Cancer Network & American Cancer Society. *Nausea and Vomiting Treatment Guidelines for Patients with Cancer*. 2005. Version III.
  33. Zofran® injection, tablets, syrup, suppositories and zofran zydis wafers (ondansetron HCl) product information. GlaxoSmithKline Australia Pty Ltd. 2005, 21, February.

34. Simpson, Karen H. and Fiona M. Hicks., Clinical Pharmacokinetics of Ondansetron: A Review, *J. Pharm. Pharmacol*, 1991; **48** : 774 – 781.
35. Blake JC, Palmer JL, Minton N.A. and Burroughs A.R., The Pharmacokinetics of Ondansetron in Patients with Hepatic Impairment. *Br J Clin Pharmacol*, 1993; **35**: 441-3.
36. Frederick, J. Pritchard., Ondansetron Metabolism and pharmacokinetics. *Seminars in Oncology* , 1992; **19(4)** : 9-15
37. Tyers, Micheal B. Pharmacology and Preclinical Antiemetic Properties of Ondansetron. *Seminars in Oncology*, 1992; **19(4)**: 1-8
38. Leeser J, and Lip H. Prevention of Postoperative Nausea and Vomiting Using Ondansetron, a New, Selective, 5-Ht3 Receptor Antagonist. *Anaesth Analg*. 1991; **72**: 751-755.
39. Sigma Aldrich. *Sodium diethyldithiocarbamate trihydrate*, <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/SpecificationSheetpage/SIAL/D3506.html> , pada 9 Agustus, 2008. pukul 19:40 WIB.
40. WikiPedia. *Sodium diethyldithiocarbamate*. [http://en.wikipedia.org/wiki/Sodium\\_diethyldithiocarbamate](http://en.wikipedia.org/wiki/Sodium_diethyldithiocarbamate) , pada 6 Juni, 2008. pukul 15:20 WIB.
41. Edwin L. M., Lempers, and Jan Reedijk. Reversibility of Binding of Cisplatin-Methionine in Proteins by Diethyldithiocarbamate or Thiourea: a Study with Model Adducts. *Inorganic Chemistry*, 1990. **29(2)**.
42. Borch R.F. *Inhibition of undesired effects of platinum(II) compounds*.1984. <http://www.patentstorm.us/patents/4426372/fulltext.html>. tanggal 3, maret 2009 jam 18:11wib
43. Williams DA. Drug Stability and Compatibility in Oncology Care. *J Infus Chemother*. Abstract. 1996 ; **6(4)**: 195-202.
44. Murney, Peter., To Mix or not to Mix – Compatibilities of Parenteral Drug Solutions. *Aust Prescr*, 2008; **31**: 98–101.
45. Neil, D. Danielson, Patricia A. Gallagher, and James J. Bao, *Chemical Reagents and Derivatization Procedures in Drug Analysis*,

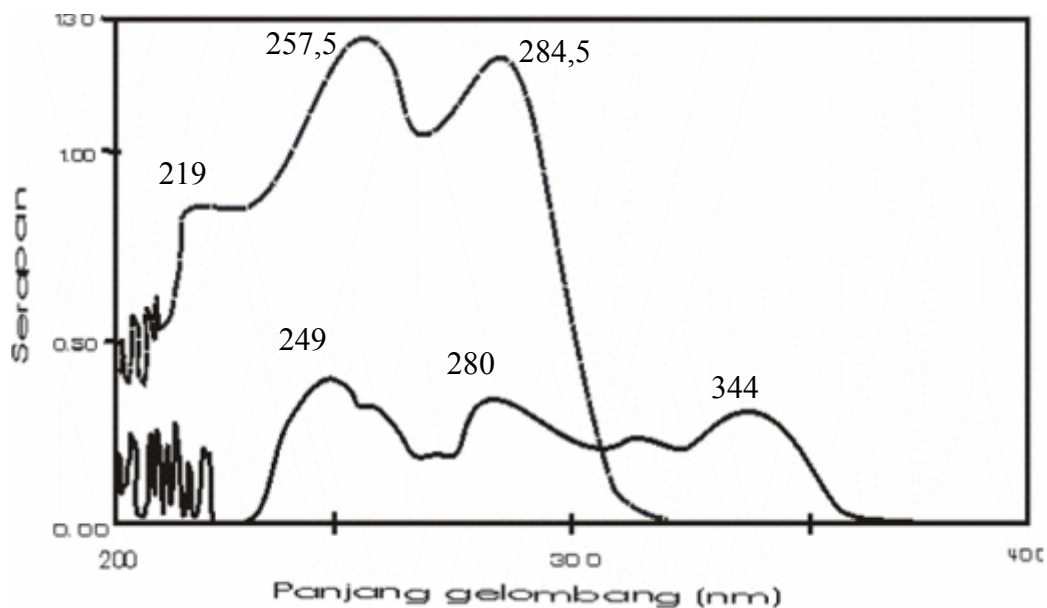
*Encyclopedia of Analytical Chemistry*. R.A. Meyers (Ed.), John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 2000. 7042–7076,

46. Ganjar, Ibnu Gholib dan Abdul Rohman, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, 2007 : 378-416, 456-480.
47. The ICH Steering Committee, Validation of Analytical Procedure Methodology, ICH Harmonized Tripartite Guideline, International Conference of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, New York, 1996.
48. Mollison, Karl W. Thomas A. Fey, Ruth A. Krause, Janet M. Andrews, Par. T. Bretheim, Julie A. Brandt, Megumi Kawai, Rolf Wagner, Gin C. Hsieh and Jay R. Luly. Discovery of Less Nephrotoxic FK506 Analogs and Determining Immunophilin Dependence of Immunosuppressant Nephrotoxicity with a Novel Single-Dose Rat Cisplatin Potentiation Assay. *J Pharmacol Exp Ther*, 1997. **283**:1509–1519.
49. Varvara, Andrea., Crina Maria Monciu, Corina Arama and C. Popescu., The Liquid Chromatographic Assay of Ondansetron Hydrochloride and Its Impurities Using a New Stationary Phase. *Farmacia*, 2008, **LVI**, 2.



Gambar 7. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

- Keterangan:
- A = pompa dan sistem gradien
  - B = kontrol sistem
  - C = tempat injeksi sampel
  - D = pemanas kolom
  - E1 = detektor Uv-Vis
  - E2 = detektor fluoresensi
  - F = komputer perekam data
  - G1 = filter pre kolom
  - G2 = filter post kolom

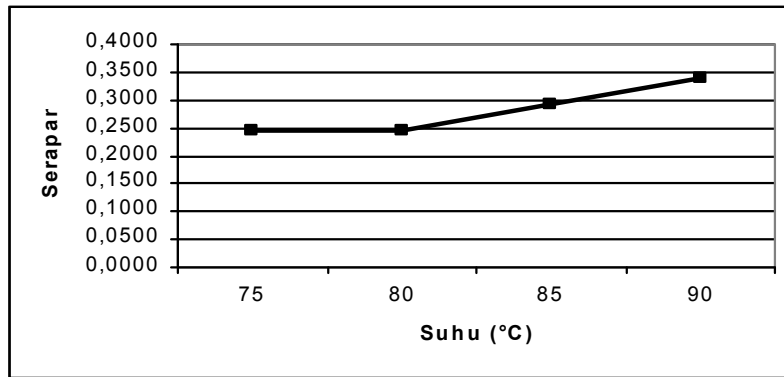


Gambar 8 : Spektrum Panjang Gelombang Derivat Sisplatin Dalam Asetonitril-Air (75:25 v/v) dan Natrium Dietilditiokarbamat Dalam NaOH 0,2N.

Keterangan:

- Natrium dietilditiokarbamat  
 — Derivat sisplatin-dietilditiokarbamat

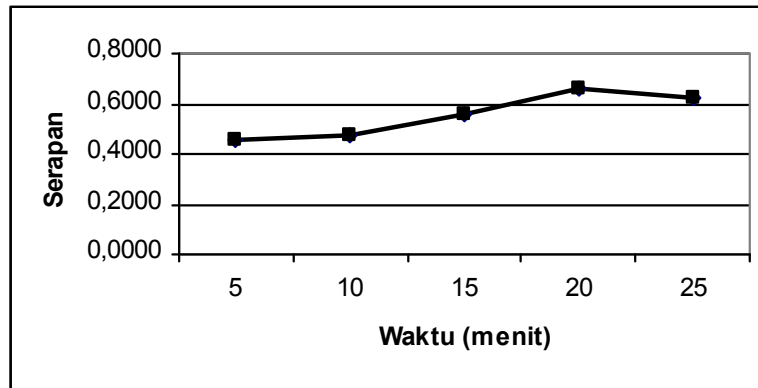
Sampel	Panjang Gelombang (nm)	Serapan
Derivat sisplatin	344	0,1206
	280	0,1852
	249	0,2073
Natrium Dietilditiokarbamat	284,5	1,2131
	257,5	1,2451
	219	0,5969



Gambar 9. Pengaruh Suhu Terhadap Pembentukan Derivat Sisplatin 100ppm dengan 10 $\mu$ l Natrium Dietilditiokarbamat 10% yang Diukur Pada  $\lambda$  maks 344 nm.

Keterangan : Pembentukan derivat platina-dietilditiokarbamat optimum pada suhu 90 °C.





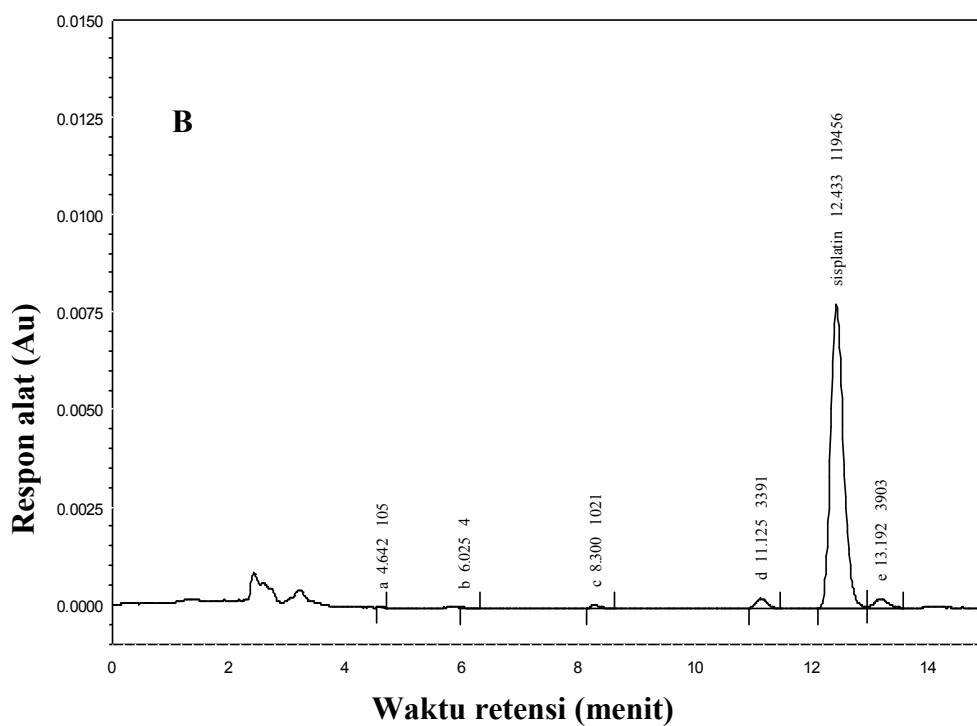
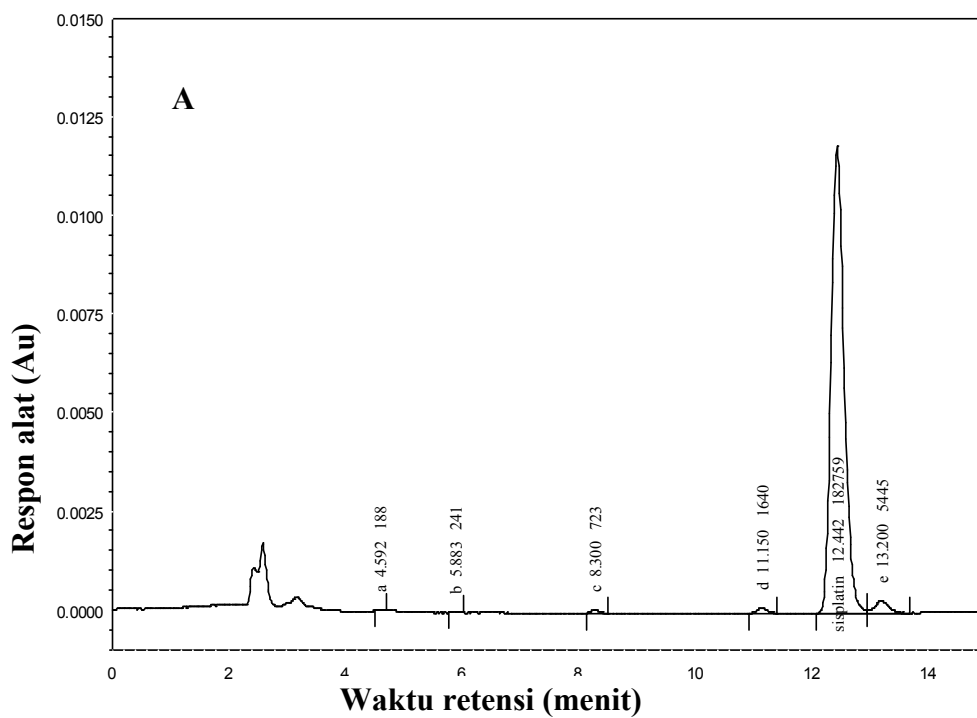
Gambar 10. Pengaruh Waktu Terhadap Pembentukan Derivat Sisplatin 100 ppm dengan 10 $\mu$ l Natrium Dietilditiokarbamat 10% yang Diukur Pada  $\lambda$  maks 344 nm.

Keterangan : Pembentukan derivat platina-dietilditiokarbamat dengan waktu optimum 20 menit



Gambar 11. Pengaruh Jumlah Dietilditiokarbamat Pembentukan Derivat Sisplatin 100 ppm dengan Natrium Dietilditiokarbamat 10% yang Diukur Pada  $\lambda$  maks 344 nm.

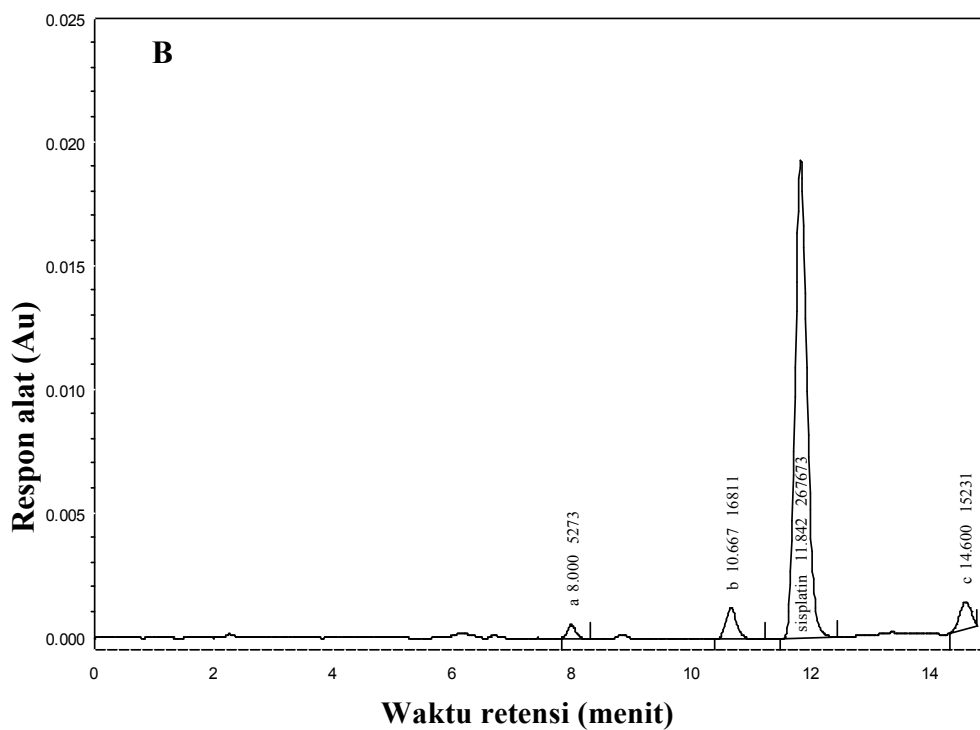
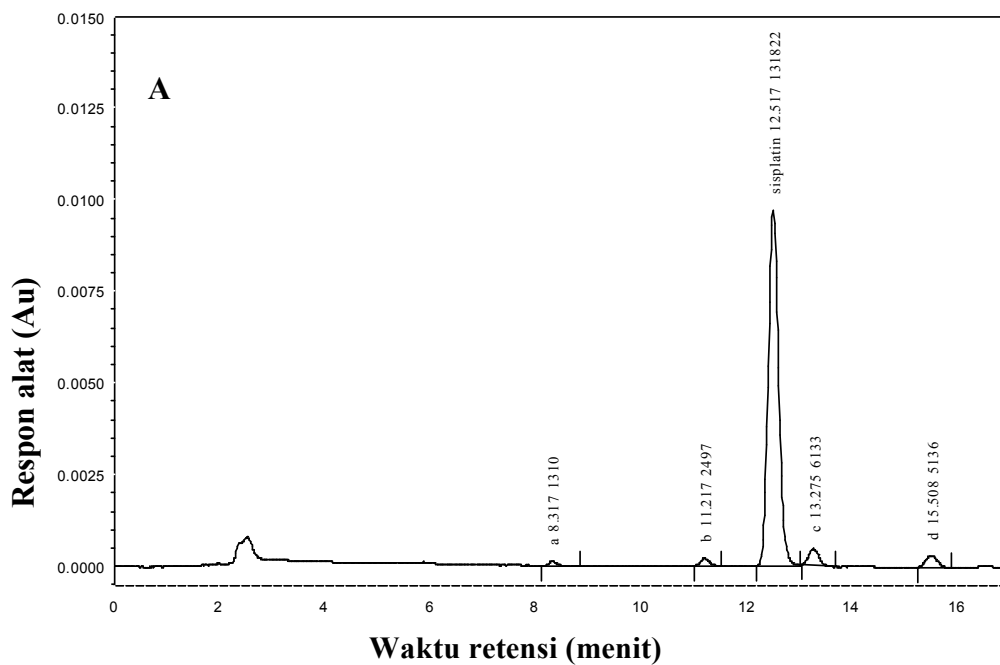
Keterangan : Jumlah dietilditiokarbamat untuk pembentukan derivat platina-dietilditiokarbamat optimum sebanyak 20 µl.



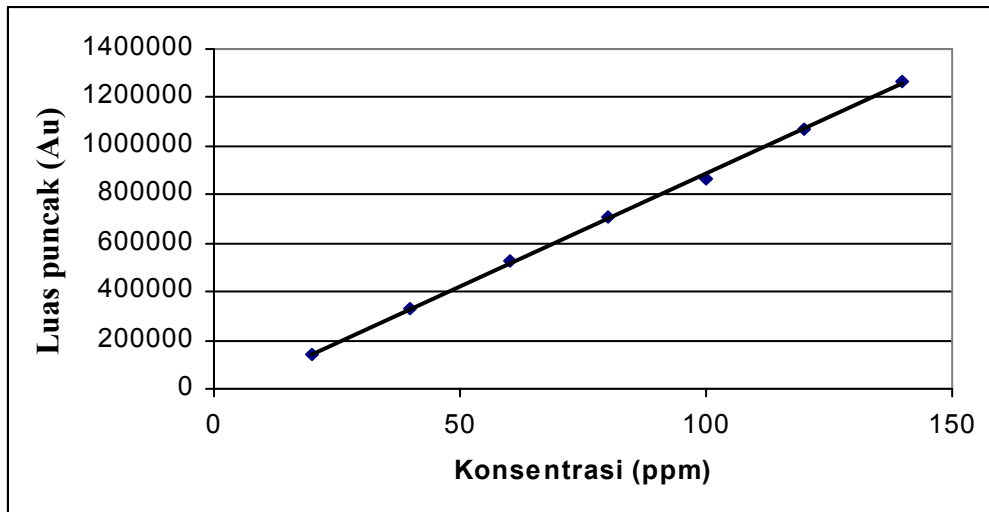
Gambar 12 : Kromatogram Uji Selektivitas Derivatisasi Sisplatin

Keterangan : A = Kromatogram derivat standar sisplatin

B = Kromatogram campuran sisplatin dan ondansetron



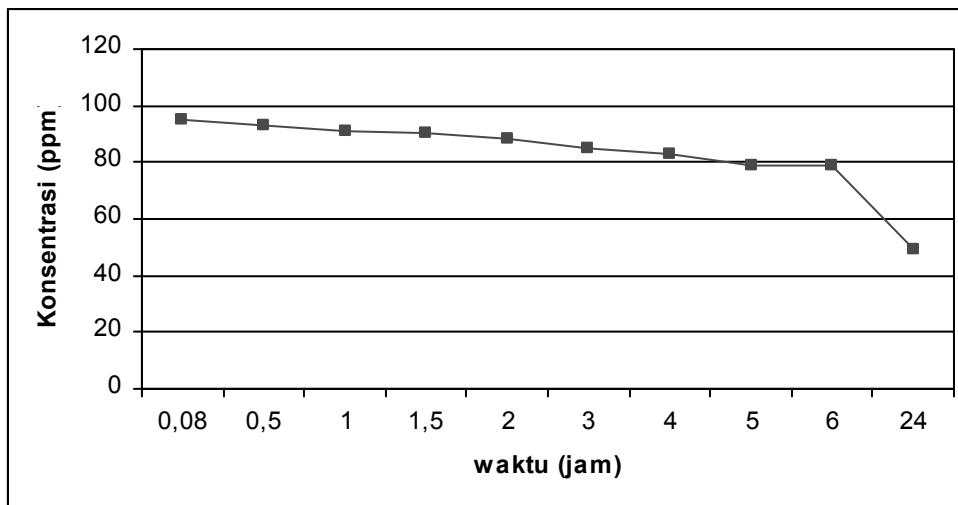
Gambar 13 : Perbandingan Kromatogram Derivat Sisplatin Menggunakan Pelarut Ekstraksi Isoamilalkohol (A) dan Kloroform(B).



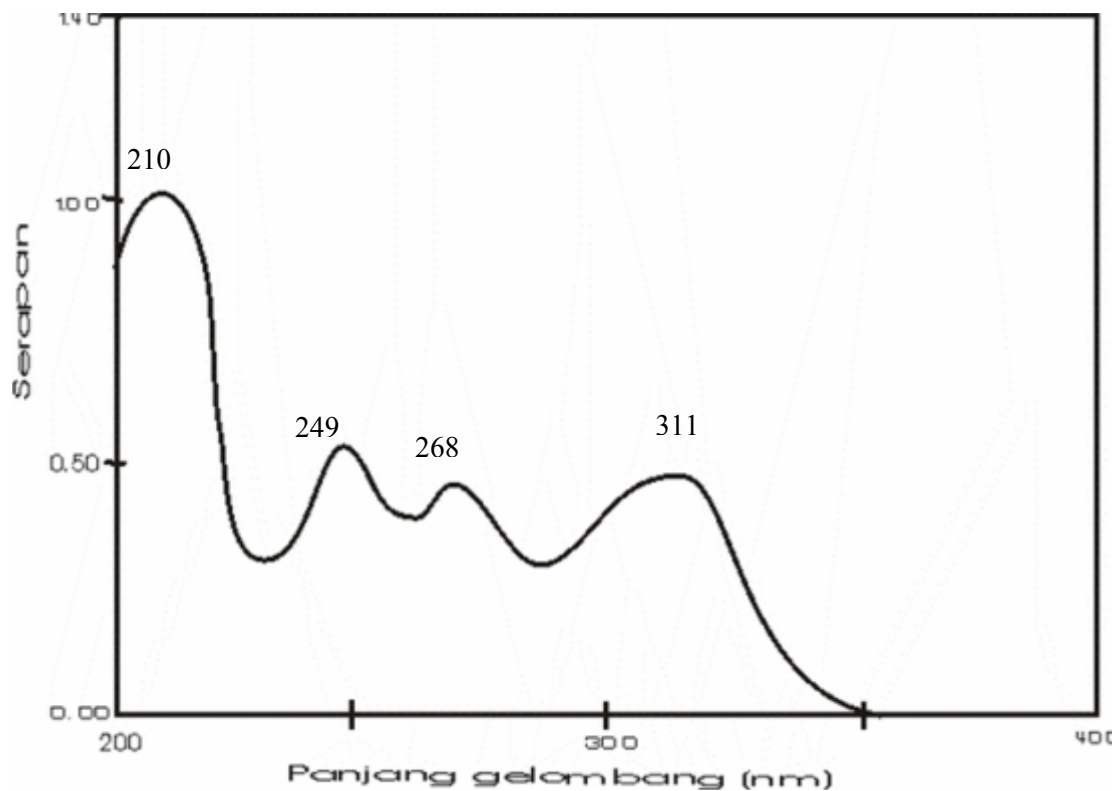
Gambar 14 : Kurva Kalibrasi Sisplatin Dalam Larutan NaCl 0,9 %.

Keterangan : Persamaan regresi :  $Y = 9340,34643 X - 46216,85714$

Koefisien korelasi :  $r = 0,9994$



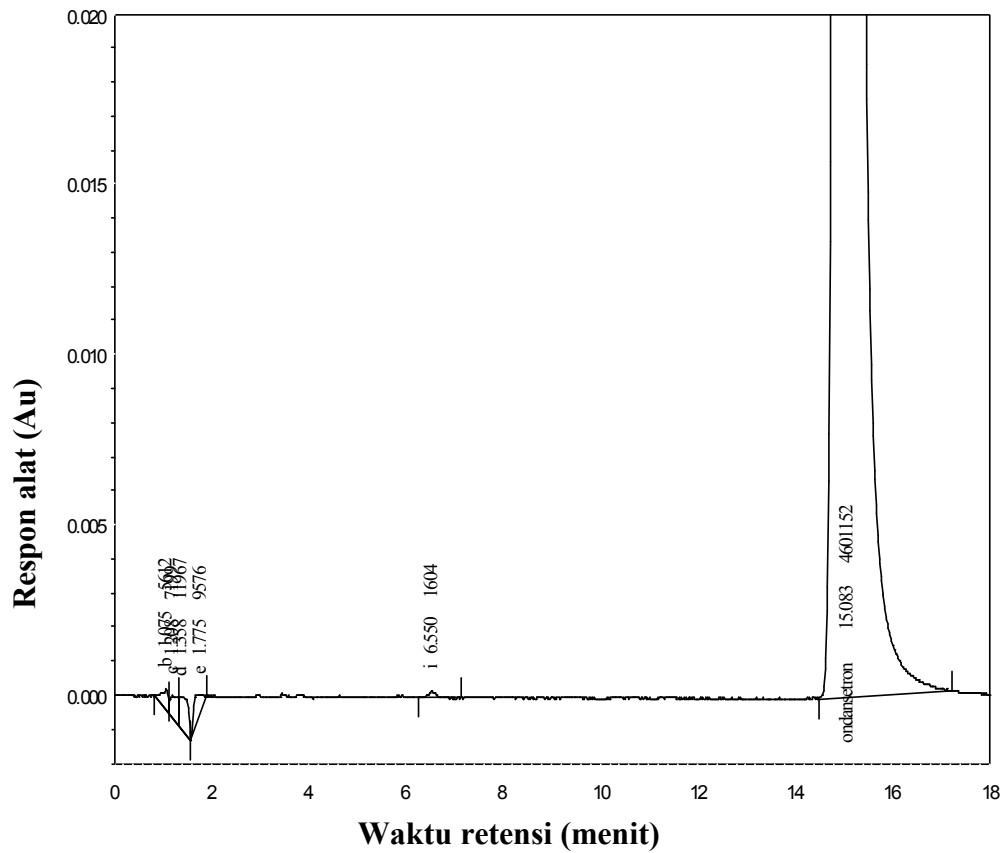
Gambar 15 : Kurva Kestabilan Derivat Sisplatin Hasil Reaksi dengan Dietilditiokarbamat.



Gambar 16 : Spektrum Panjang Gelombang Maksimum Larutan Ondansetron HCl dalam Aquabides.

Keterangan :

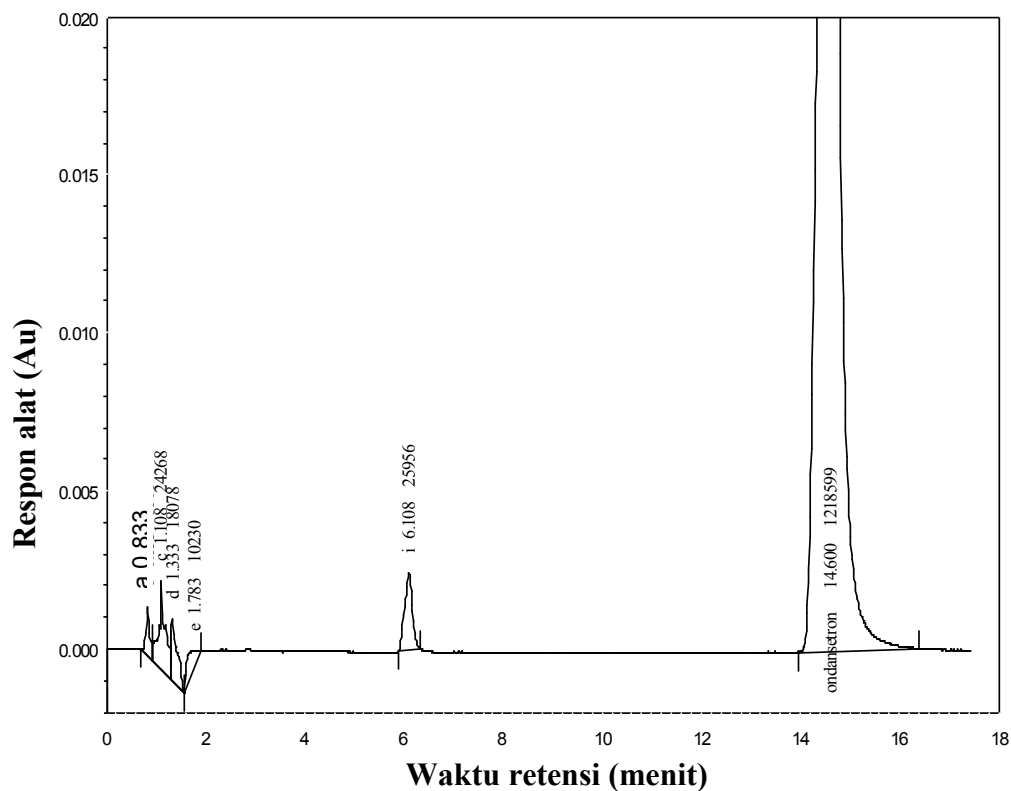
Sampel	Panjang gelombang (nm)	Serapan
Ondansetron HCl	311	0,4651
	268	0,4117
	249	0,5048
	210	1,0164



Gambar 17 : Kromatogram Uji Selektivitas Standar Ondansetron HCl

Keterangan : b,c,d,e = puncak pelarut  
i = puncak hasil urai standar ondansetron HCl  
puncak standar ondansetron HCl berada pada waktu retensi 15,083 menit





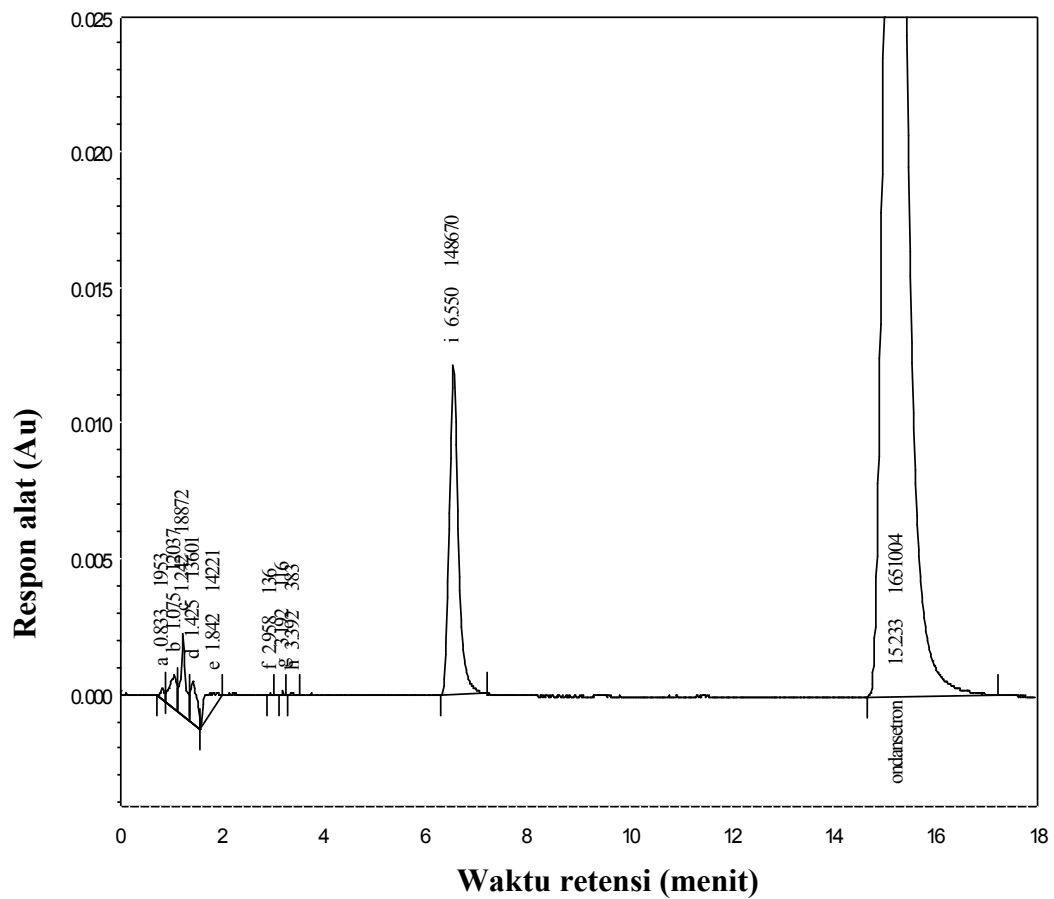
Gambar 18 : Kromatogram Uji Selektivitas Sampel Injeksi Ondansetron HCl

Keterangan : a = produk hasil urai ondansetron yang menutupi puncak pelarut  
b pada kromatogram standar ondansetron.

c,d,e = puncak pelarut

i = puncak hasil urai sampel ondansetron HCl tR 6,108 menit  
semakin luas sampai 25956

puncak standar ondansetron HCl berada pada waktu retensi 14,600  
menit



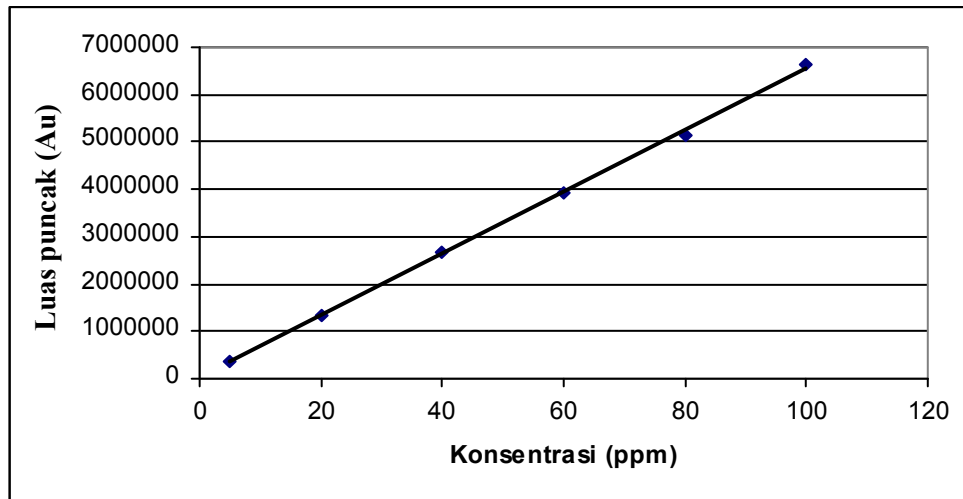
Gambar 19: Kromatogram Uji Selektivitas Sampel Injeksi Ondansetron HCl dan Sisplatin.

Keterangan : b,c,d,e = puncak pelarut

a,f,g dan h = puncak produk hasil urai campuran ondansetron dan sisplatin

i = puncak hasil urai dari sampel ondansetron HCl tR 6,550 menit semakin luas karena campuran sisplatin

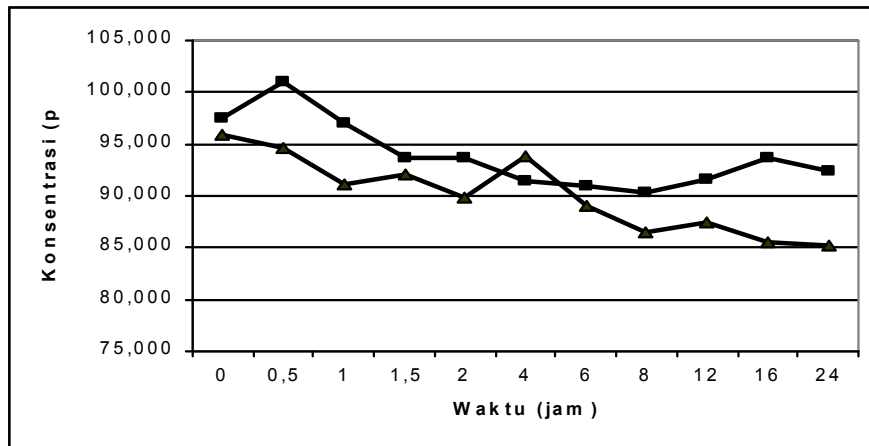
puncak standar ondansetron HCl berada pada waktu retensi 15,083 menit



Gambar 20: Kurva Kalibrasi Ondansetron HCl.

Keterangan : persamaan regresi :  $Y = 29406,577 + 665197,143X$

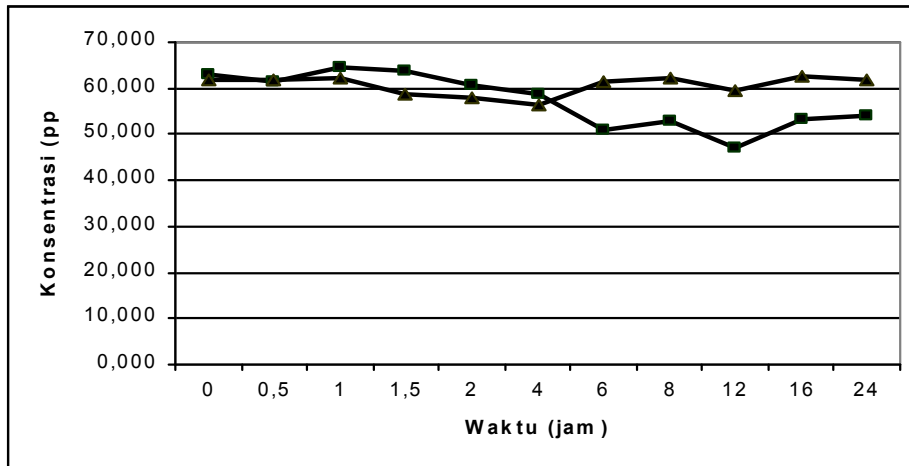
Koefisien korelasi :  $r = 0,9992$



Gambar 21: Kurva Kestabilan Sisplatin Dalam Campuran Larutan Infus Ondansetron HCl.

Keterangan : ■ : Kontrol sisplatin tunggal

▲ : Campuran sisplatin dan ondansetron HCl



Gambar 22: Kurva Kestabilan Ondansetron HCl Dalam Larutan Infus NaCl 0,9%

Keterangan : ■ : campuran ondansetron HCl dan sisplatin  
▲ : kontrol ondansetron tunggal

Tabel 2 : Data Penentuan Pengaruh Suhu Terhadap Pembentukan Derivat Sisplatin 100ppm dengan 10 $\mu$ l Natrium Dietilditiokarbamat 10% yang Diukur Pada  $\lambda$  maks 344 nm .

Suhu (°C)	Serapan
75	0,2440
80	0,2460
85	0,2930
90	0,3383

Keterangan : Pembentukan derivat platina-dietilditiokarbamat pada suhu optimum 90 °C

Tabel 3 : Data Penentuan Pengaruh Waktu Terhadap Pembentukan Derivat Sisplatin 100 ppm dengan 10 $\mu$ l Natrium Dietilditiokarbamat 10% yang Diukur Pada  $\lambda$  maks 344 nm .

Waktu (menit)	Serapan
5	0,4528
10	0,4716
15	0,5565
20	0,6584
25	0,6195

Keterangan : Pembentukan derivat platina-dietilditiokarbamat selama waktu optimum 20 menit.

Tabel 4 : Data Penentuan Pengaruh Jumlah Dietilditiokarbamat Terhadap Pembentukan Derivat Sisplatin 100 ppm dengan Natrium Dietilditiokarbamat 10% yang Diukur Pada  $\lambda$  maks 344 nm ..

Jumlah ( $\mu$ l)	Serapan
5	0,4546
10	0,4857
15	0,5326
20	0,5397
25	0,5361

Keterangan : Jumlah dietilditiokarbamat optimum untuk pembentukan derivat platina-dietilditiokarbamat sebanyak 20  $\mu$ l.



Tabel 5 : Optimasi Komposisi Fase Gerak asetonitril-air dengan Kecepatan Alir 1 ml/menit untuk Analisis Derivat Sisplatin-DEDTC pada Panjang Gelombang 344 nm

Komposisi Asetonitril-air (v/v)	tR (menit)	Luas puncak ( $\mu\text{v/s}$ )	Resolusi	Tf	N	HETP (mm)
70:30	10,042	251229	3,31	1,12	17147,41	0,0146
	10,067	241574	3,79	1,09	16338,32	0,0153
75:25	7,867	206091	2,42	1,12	16299,99	0,0153
	7,883	199857	2,58	1,08	16463,99	0,0152
65:35	13,392	207575	5,16	1,11	19142,40	0,0131
	13,450	208546	5,18	1,10	18899,94	0,0132

Keterangan : komposisi fase gerak untuk analisis asetonitril : air (70 : 30 v/v)

Tabel 6 : Optimasi Kecepatan Alir Fase Gerak (Asetonitril-air; 70:30 V/V) untuk Analisis Derivat Sisplatin-DEDTC pada Panjang Gelombang 344 nm.

Kecepatan (ml/menit)	tR (menit)	Luas puncak ( $\mu\text{v/s}$ )	Resolusi	Tf	N	HETP (mm)
0,8 ml	12,517	232503	3,78	1,13	19086,13	0,0131
	12,508	231803	4,01	1,16	19211,31	0,0130
1 ml	10,125	202361	3,76	1,10	17858,36	0,0140
	10,108	203531	3,76	1,15	17767,15	0,0141
1,2 ml	8,500	187664	2,68	1,08	16506,03	0,0151
	8,517	192405	2,69	1,08	16543,34	0,0151

Keterangan : kecepatan alir fase gerak untuk analisis 0,8 ml/menit

Tabel 7 : Data Efisiensi Pelarut Ekstraksi Isoamilalkohol dan Kloroform Terhadap Derivat Sisplatin 40 ppm

No	Isoamilalkohol	Kloroform	Perbandingan luas puncak (%)	rata-rata
	Luas puncak ( $\mu\text{v/s}$ )	Luas puncak ( $\mu\text{v/s}$ )		
1	131822	320476	58,867	60,230
2	146745	397144	63,050	$\pm 2,442$
3	135128	327774	58,774	

Keterangan : pelarut ekstraksi derivat sisplatin yang digunakan adalah kloroform.

Tabel 8 : Kurva Kalibrasi Sisplatin

Kadar ( $\mu\text{g/ml}$ )	Luas puncak ( $\mu\text{v/s}$ )
20	137673
40	327774
60	524873
80	705940
100	867646
120	1073122
140	1270048

Keterangan : Persamaan regresi :  $Y = 9340,34643 X - 46216,85714$

Koefisien korelasi :  $r = 0,9994$

Tabel 9 : Presisi dan Akurasi Sisplatin (intra-hari)

No	Konsentrasi (ppm)	Luas puncak ( $\mu\text{v/s}$ )	Konsentrasi terukur (ppm)	% UPK	%diff	SD	RSD %
1	73,9	648595	74,481	100,786	0,786	0,748	0,748
2		647545	74,369	100,634	0,634		
3		645199	74,118	100,295	0,295		
4		640573	73,623	99,625	-0,375		
5		636214	73,156	98,994	-1,006		
			rata-rata=	100,067	0,067		
1	92,42	775199	88,029	95,249	-4,751	0,554	0,578
2		787521	89,348	96,676	-3,324		
3		782700	88,832	96,118	-3,882		
4		780862	88,635	95,905	-4,095		
5		777412	88,266	95,505	-4,495		
			rata-rata=	95,890	-4,110		
1	110,9	940573	105,726	95,335	-4,665	1,585	1,697
2		933214	104,938	94,624	-5,376		
3		914605	102,947	92,829	-7,171		
4		913504	102,829	92,723	-7,277		
5		899740	101,356	91,394	-8,606		
			rata-rata=	93,381	-6,619		

Keterangan : 1. Presisi intra-hari dengan koefisien variasi (RSD) pada konsentrasi rendah 0,748 %, sedang 0,578 % dan tinggi 1,697%.

2. Akurasi intra-hari dengan % *diff* pada konsentrasi rendah 0,067 %, sedang -4,110% dan tinggi -6,619%.

Tabel 10 : Presisi dan Akurasi Sisplatin (inter-hari)

konsentrasi rendah 73,9 µg/ml (80%)						
Hari ke-	Luas puncak (µv/s)	Konsentrasi terukur (ppm)	% UPK	%diff	SD	RSD %
1	660565	75,762	102,520	2,520	1,271	1,255
	656148	75,289	101,880	1,880		
	650326	74,666	101,037	1,037		
	656311	75,307	101,904	1,904		
	637971	73,344	99,248	-0,752		
		rata-rata=	101,318	1,318		
2	654980	75,16439	101,711	1,711	1,700	1,708
	649787	74,60868	100,959	0,959		
	633507	72,86654	98,602	-1,398		
	633237	72,83765	98,562	-1,438		
	628025	72,27991	97,808	-2,192		
		rata-rata=	99,528	-0,472		
3	653112	74,964	101,440	1,440	0,877	0,868
	658788	75,572	102,262	2,262		
	647321	74,345	100,602	0,602		
	642857	73,867	99,955	-0,045		
	648647	74,487	100,794	0,794		
		rata-rata=	101,011	1,011		
4	695591	79,510	107,592	7,592	2,857	2,758
	678427	77,673	105,106	5,106		
	664252	76,157	103,054	3,054		
	644446	74,037	100,186	0,186		
	657078	75,389	102,015	2,015		
		rata-rata=	103,590	3,590		
5	641542	73,726	99,765	-0,235	1,781	1,817
	634119	72,932	98,690	-1,310		
	621508	71,583	96,864	-3,136		
	638519	73,403	99,327	-0,673		
	612355	70,603	95,539	-4,461		
		rata-rata =	98,037	-1,963		
				Rata-rata % diff =	0,697	1,681

Tabel 10 : (lanjutan)

konsentrasi sedang 92,42 µg/ml (100%)						
Hari ke-	Luas puncak (µv/s)	Konsentrasi terukur (ppm)	% UPK	% diff	SD	RSD %
1	757017	86,083	93,144	-6,856	1,602	1,747
	752588	85,610	92,631	-7,369		
	747148	85,027	92,001	-7,999		
	743657	84,654	91,597	-8,403		
	721349	82,267	89,014	-10,986		
		rata-rata=		91,677		
2	744071	84,698	91,645	-8,355	2,599	2,762
	799754	90,657	98,092	-1,908		
	775132	88,022	95,241	-4,759		
	751580	85,502	92,514	-7,486		
	755705	85,943	92,992	-7,008		
		rata-rata=		94,097		
3	747648	85,081	92,059	-7,941	0,713	0,784
	738834	84,138	91,038	-8,962		
	730618	83,258	90,087	-9,913		
	737509	83,996	90,885	-9,115		
	736211	83,857	90,735	-9,265		
		rata-rata=		90,961		
4	845009	95,500	103,332	3,332	2,244	2,217
	847192	95,733	103,585	3,585		
	824360	93,290	100,941	0,941		
	801405	90,833	98,283	-1,717		
	816570	92,456	100,039	0,039		
		rata-rata=		101,236		
5	801405	90,833	98,283	-1,717	1,599	1,598
	805790	91,303	98,791	-1,209		
	828062	93,686	101,370	1,370		
	833483	94,266	101,998	1,998		
	816440	92,442	100,024	0,024		
		rata-rata=		100,093		
Rata-rata % diff =				-4,387		1,822

Tabel 10 : (lanjutan)

konsentrasi tinggi 110,9 $\mu\text{g/ml}$ (120%)						
Hari ke-	Luas puncak ( $\mu\text{v/s}$ )	Konsentrasi terukur (ppm)	% UPK	% diff	SD	RSD %
1	961056	107,918	97,311	-2,689	1,098	1,113
	985769	110,562	99,696	-0,304		
	964761	108,314	97,668	-2,332		
	982341	110,196	99,365	-0,635		
	981981	110,157	99,330	-0,670		
			rata-rata=	98,674		
2	960483	107,857	97,256	-2,744	0,866	0,878
	982972	110,263	99,426	-0,574		
	979984	109,943	99,137	-0,863		
	977966	109,727	98,943	-1,057		
	971084	108,991	98,279	-1,721		
			rata-rata=	98,608		
3	920717	103,601	93,419	-6,581	2,528	2,830
	878606	99,095	89,355	-10,645		
	874348	98,639	88,944	-11,056		
	868247	97,986	88,356	-11,644		
	849516	95,982	86,548	-13,452		
			rata-rata=	89,324		
4	913528	102,832	92,725	-7,275	0,652	0,704
	916840	103,186	93,044	-6,956		
	917503	103,257	93,108	-6,892		
	911982	102,666	92,576	-7,424		
	900746	101,464	91,491	-8,509		
			rata-rata=	92,589		
5	981190	110,072	99,254	-0,746	1,966	2,052
	939907	105,655	95,270	-4,730		
	940986	105,770	95,374	-4,626		
	936703	105,312	94,961	-5,039		
	929440	104,535	94,260	-5,740		
			rata-rata=	95,824		
				rata % diff =	-4,996	1,515

Keterangan : 1. Presisi inter-hari dengan koefisien variasi (RSD) rata-rata pada konsentrasi rendah 1,681%, sedang 1,822% dan tinggi 1,515%.

2. Akurasi inter-hari dengan % *diff* rata-rata pada konsentrasi rendah 0,697%, sedang -4,387% dan tinggi -4,996%.



Tabel 11: Hasil Uji Perolehan Kembali Sisplatin

Data Uji Perolehan Kembali					
No	Konsentrasi (ppm)	Luas puncak ( $\mu\text{v/s}$ )	Konsentrasi terukur (ppm)	% UPK	% diff
1	73,9	615810	70,973	96,04	-3,96
2		571524	66,234	89,63	-10,37
3		563656	65,392	88,49	-11,51
4		581361	67,286	91,05	-8,95
5		577982	66,925	90,56	-9,44
			rata-rata=	91,15	-8,85
1	92,42	847072	95,720	103,57	3,57
2		878523	99,086	107,21	7,21
3		811944	91,961	99,50	-0,50
4		867112	97,865	105,89	5,89
5		876093	98,826	106,93	6,93
			rata-rata=	104,62	4,62
1	110,9	1024338	114,690	100,11	3,42
2		982621	110,226	98,01	-0,61
3		989770	110,991	100,57	0,08
4		984284	110,404	99,66	-0,45
5		976399	109,560	98,77	-1,21
			rata-rata=	99,42	0,25

Keterangan : perolehan kembali sisplatin pada konsentrasi rendah 91,15%,  
sedang 104,62% dan tinggi 99,42% .

Tabel 12 : Data Stabilitas Derivat Sisplatin 92,42 ppm Hasil Reaksi dengan Dietilditiokarbamat

Waktu (jam)	Luas puncak ( $\mu\text{v/s}$ )	Konsentrasi terukur (ppm)	Penurunan kadar (%)
0,08	842712	95,254	0,00
0,5	824840	93,341	-2,01
1	801797	90,875	-4,60
1,5	794800	90,127	-5,38
2	776852	88,206	-7,40
3	748619	85,185	-10,57
4	726365	82,803	-13,07
5	690095	78,922	-17,15
6	688134	78,712	-17,37
24	410557	49,008	-48,55

Keterangan : derivat sisplatin yang terbentuk tidak stabil dalam larutan fase gerak selama 24 jam.

Tabel 13 : Optimasi Komposisi Fase Gerak  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,02 M pH 7 – asetonitril dengan Kecepatan Alir 2 ml/menit untuk Analisis Ondansetron HCl Pada Panjang Gelombang 249 nm.

Komposisi fase gerak (v/v)	Waktu retensi (menit)	Luas puncak ( $\mu\text{v/s}$ )	N	HETP (mm)	Tf
80:20	33,750	626892	12596,13	0,01984	1,79
	33,475	612515	12459,54	0,02006	1,83
75:25	15,492	602418	11276,88	0,02217	1,82
	15,550	604981	11488,91	0,02176	1,79
70:30	9,133	600601	10113,18	0,02472	1,87
	9,133	586508	9958,27	0,02510	1,71

Keterangan : komposisi fase gerak untuk analisis ondansetron HCl adalah  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,02 M pH 7 – asetonitril (75:25 v/v).

Tabel 14 : Optimasi Kecepatan Alir Dengan Fase Gerak  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,02 M pH 7 – asetonitril (75:25 v/v) dengan Variasi Kecepatan Alir untuk Analisis Ondansetron HCl Pada Panjang Gelombang 249 nm.

Kecepatan alir (ml/menit)	Waktu retensi (menit)	Luas puncak ( $\mu\text{v/s}$ )	N	HETP (mm)	Tf
1,8	19,133	671566	8364,55	0,02989	1,88
	19,133	666290	8491,42	0,02944	1,85
2	15,492	602418	11276,88	0,02217	1,82
	15,550	604981	11488,91	0,02176	1,79
2,2	14,656	474351	8069,42	0,03098	1,80
	14,789	486779	8043,23	0,03108	1,83

Keterangan : kecepatan alir fase gerak  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,02 M pH 7 – asetonitril (75:25 v/v) untuk analisis ondansetron HCl adalah 2 ml/menit.

Tabel 15 : Optimasi Kekuatan Dapar Fase Gerak

kekuatan dapar (M)	waktu Retensi (menit)	Luas puncak ( $\mu\text{v/s}$ )	N	HETP (mm)	Tf
0,02	15,742	523212	5054,47	0,04946	1,85
	15,633	522350	5081,24	0,04920	1,82
0,05	15,983	534452	5477,33	0,04564	1,79
	15,242	527781	5497,25	0,04548	1,69

Keterangan : kekuatan dapar  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  pH 7 yang digunakan untuk analisis ondansetron HCl adalah 0,05 M.

Tabel 16 : Kurva Kalibrasi Ondansetron HCl

Kadar ( $\mu\text{g/ml}$ )	Luas puncak ( $\mu\text{v/s}$ )
5	357991
20	1334431
40	2686365
60	3913481
80	5136798
100	6632502

Persamaan regresi linier:  $Y = 29406,577 + 665197,143X$

Koefisien korelasi  $r = 0,9992$

Tabel 17 : Presisi dan Akurasi Ondansetron HCl (intra-hari)

No	Konsentrasi (ppm)	Luas puncak ( $\mu\text{v/s}$ )	Konsentrasi terukur (ppm)	% UPK	%diff	SD	RSD %
1	25	1455225	21,469	85,878	-14,124	1,135	1,343
2	25	1431029	21,089	84,355	-15,644		
3	25	1445555	21,317	85,269	-14,732		
4	25	1408956	20,741	82,966	-17,036		
5	25	1424862	20,991	83,967	-16,036		
			rata-rata=	84,487	-15,514		
1	50	2997544	45,742	91,483	-8,516	1,015	1,102
2	50	3030161	46,254	92,510	-7,492		
3	50	3068993	46,866	93,732	-6,268		
4	50	2993107	45,671	91,344	-8,658		
5	50	2998599	45,758	91,516	-8,484		
			rata-rata=	92,117	-7,884		
1	75	4556197	70,271	93,694	-6,305	0,069	0,074
2	75	4553628	70,23	93,640	-6,360		
3	75	4547247	70,129	93,506	-6,495		
4	75	4553487	70,228	93,637	-6,363		
5	75	4552028	70,205	93,607	-6,393		
			rata-rata=	93,617	-6,383		

Keterangan : 1. Presisi intra-hari dengan koefisien variasi (RSD) pada konsentrasi rendah 1,343%, sedang 1,102% dan tinggi 0,074%.

2. Akurasi intra-hari dengan % diff pada konsentrasi rendah -15,514%, sedang -7,884% dan tinggi -6,383%.

Tabel 18: Presisi dan Akurasi Ondansetron HCl (inter-hari).

konsentrasi rendah 25 µg/ml						
Hari ke-	Luas puncak (µv/s)	Konsentrasi terukur (ppm)	% UPK	%diff	SD	RSD %
1	1540453	22,81	91,243	-8,760	0,543	0,592
	1546769	22,91	91,641	-8,360		
	1556931	23,07	92,280	-7,720		
	1556166	23,058	92,232	-7,768		
	1538379	22,778	91,113	-8,888		
		rata-rata=	91,702	-8,299		
2	1558488	23,094	92,378	-7,624	2,613	2,901
	1453728	21,446	85,784	-14,216		
	1513328	22,384	89,536	-10,464		
	1537780	22,768	91,075	-8,928		
	1546044	22,899	91,595	-8,404		
		rata-rata=	90,074	-9,927		
3	1438659	21,209	84,835	-15,164	2,029	2,336
	1455848	21,479	85,917	-14,084		
	1499186	22,161	88,645	-11,356		
	1511480	22,355	89,419	-10,580		
	1449821	21,384	85,538	-14,464		
		rata-rata=	86,871	-13,130		
4	1690902	25,178	100,714	0,712	0,627	0,623
	1700108	25,323	101,293	1,292		
	1672799	24,894	99,574	-0,424		
	1690097	25,166	100,663	0,664		
	1691555	25,189	100,755	0,756		
		rata-rata=	100,600	0,600		
5	1668203	24,821	99,285	-0,716	0,734	0,739
	1681539	25,031	100,124	0,124		
	1661432	24,715	98,859	-1,140		
	1652997	24,582	98,328	-1,672		
	1677603	24,969	99,876	-0,124		
		rata-rata=	99,294	-0,706		
				rata % diff =		1,438



Tabel 18 : (lanjutan)

konsentrasi sedang 50 µg/ml

Hari ke-	Luas puncak (µv/s)	Kosentrasi terukur (ppm)	% UPK	% diff	SD	RSD %
1	2938082	44,806	89,612	-10,388	0,790	0,872
	2988474	45,599	91,198	-8,802		
	2996502	45,725	91,450	-8,550		
	2949177	44,980	89,961	-10,039		
	2975287	45,391	90,783	-9,217		
		rata-rata=	90,601	-9,399		
2	3299381	50,492	100,983	0,983	1,830	1,869
	3204048	48,991	97,983	-2,017		
	3178945	48,596	97,193	-2,807		
	3149177	48,128	96,256	-3,744		
	3175287	48,539	97,078	-2,922		
		rata-rata=	97,898	-2,102		
3	3109567	47,505	95,009	-4,991	2,117	2,153
	3292330	50,381	100,762	0,762		
	3229894	49,398	98,796	-1,204		
	3240120	49,559	99,118	-0,882		
	3202938	48,974	97,948	-2,052		
		rata-rata=	98,327	-1,673		
4	3265078	49,952	99,904	-0,048	2,240	2,281
	3106543	47,457	94,914	-2,543		
	3287732	50,308	100,617	0,308		
	3205411	49,013	98,026	-0,987		
	3188716	48,750	97,500	-1,250		
		rata-rata=	98,192	-0,904		
5	3120940	47,684	95,367	-2,316	3,289	3,291
	3237207	49,513	99,027	-0,487		
	3323340	50,869	101,738	0,869		
	3401355	52,097	104,193	2,097		
	3251389	49,736	99,473	-0,264		
		rata-rata=	99,959	-0,020		
		rata % diff =	-2,820			2,093

Tabel 18 : (lanjutan)

konsentrasi tinggi 75 µg/ml

Hari ke-	Luas puncak (µv/s)	Konsentrasi terukur (ppm)	% UPK	% diff	SD	RSD %
1	4427184	68,240	90,987	-9,013	1,506	1,656
	4319739	66,549	88,733	-11,267		
	4396274	67,754	90,339	-9,661		
	4484962	69,150	92,200	-7,800		
	4496430	69,330	92,440	-7,560		
			rata-rata=	90,940		
2	4345672	66,958	89,277	-10,723	1,099	1,218
	4418826	68,109	90,812	-9,188		
	4347847	66,992	89,322	-10,678		
	4381367	67,519	90,026	-9,974		
	4469795	68,911	91,881	-8,119		
			rata-rata=	90,264		
3	4557842	70,297	93,729	-6,271	1,841	1,998
	4566640	70,435	93,913	-6,087		
	4483547	69,127	92,170	-7,830		
	4351266	67,046	89,394	-10,606		
	4454151	68,665	91,553	-8,447		
			rata-rata=	92,152		
4	4874830	75,285	100,380	0,380	0,738	0,744
	4818110	74,393	99,190	-0,810		
	4813695	74,323	99,097	-0,903		
	4776503	73,738	98,317	-1,683		
	4817254	74,379	99,172	-0,828		
			rata-rata=	99,231		
5	4875364	75,294	100,391	0,391	0,396	0,395
	4838620	74,715	99,620	-0,380		
	4884151	75,432	100,576	0,576		
	4882332	75,403	100,538	0,538		
	4861534	75,076	100,101	0,101		
			rata-rata=	100,245		
Rata-rata % diff =				-5,434		

Keterangan : 1. Presisi inter-hari dengan koefisien variasi (RSD) rata-rata pada konsentrasi rendah 1,438%, sedang 2,093% dan tinggi 1,515%.

2. Akurasi inter-hari dengan % *diff* rata-rata pada konsentrasi rendah -6,292%, sedang 1,202 % dan tinggi -5,434%.

Tabel 19: Hasil Uji Perolehan Kembali Ondansetron HCl

No	Konsentrasi (ppm)	Luas puncak ( $\mu\text{v/s}$ )	Konsentrasi terukur (ppm)	% UPK	% diff
1	47,32	3179386	48,317	102,11	2,11
2	47,32	3282017	49,890	105,43	5,43
3	47,32	3112913	47,298	99,95	-0,05
4	47,32	3186451	48,425	102,34	2,34
5	47,32	3017719	45,839	96,87	-3,13
			rata-rata=	101,34	1,34
1	59,15	3911382	59,535	100,65	0,65
2	59,15	3909253	59,503	100,60	0,60
3	59,15	3963296	60,331	102,00	2,00
4	59,15	3962624	60,321	101,98	1,98
5	59,15	3959978	60,280	101,91	1,91
			rata-rata=	101,43	1,43
1	70,98	4663296	71,059	100,11	0,11
2	70,98	4565965	69,567	98,01	-1,99
3	70,98	4684646	71,386	100,57	0,57
4	70,98	4642165	70,735	99,66	-0,35
5	70,98	4601152	70,107	98,77	-1,23
			rata-rata=	99,42	-0,58

Keterangan : perolehan kembali sisplatin pada konsentrasi rendah 101,34%, sedang 101,43% dan tinggi 99,40%

Tabel 20 : Hasil Stabilitas Sisplatin 92,42 ppm Tunggal dalam Larutan Infus NaCl 0,9% Selama 24 Jam.

No.	Waktu (jam)	Luas puncak ( $\mu\text{V/s}$ )	Konsentrasi terukur (ppm)	% UPK	% diff	Perubahan konsentrasi (%)	pH
1	0	864097	97,542	105,542	5,542	0,00	5,40
2	0,5	897242	101,089	109,380	9,380	3,64	5,29
3	1	859207	97,019	104,976	4,976	-0,54	5,24
4	1,5	828156	93,696	101,381	1,381	-3,94	5,19
5	2	828424	93,725	101,412	1,412	-3,91	5,18
6	4	806627	91,392	98,888	-1,112	-6,31	5,17
7	6	802247	90,924	98,381	-1,619	-6,79	5,18
8	8	797311	90,395	97,809	-2,191	-7,33	5,18
9	12	809113	91,658	99,176	-0,824	-6,03	5,15
10	16	828105	93,691	101,375	1,375	-3,95	5,16
11	24	816361	92,434	100,015	0,015	-5,24	5,14

Keterangan : Sisplatin 92,42 ppm tunggal stabil dalam larutan infus NaCl 0,9% dengan penurunan konsentrasi sebesar 5,24 % selama 24 jam.

Tabel 21 : Data Kestabilan Sisplatin dalam Campuran Larutan Infus Sisplatin 94,42 ppm dengan Ondansetron HCl 59,15 ppm.

No.	Waktu (jam)	Luas puncak ( $\mu\text{V/s}$ )	Konsentrasi terukur (ppm)	% UPK	% diff	Perubahan konsentrasi (%)	pH
1	0	848744	95,899	103,765	3,765	0,00	4,43
2	0,5	836863	94,628	102,389	2,389	-1,33	4,35
3	1	804145	91,127	98,601	-1,399	-4,98	4,29
4	1,5	812610	92,033	99,581	-0,419	-4,03	4,26
5	2	791452	89,768	97,131	-2,869	-6,39	3,80
6	4	829219	93,810	101,504	1,504	-2,18	3,78
7	6	784142	88,986	96,285	-3,715	-7,21	3,75
8	8	761128	86,523	93,620	-6,380	-9,78	3,74
9	12	769514	87,421	94,591	-5,409	-8,84	3,67
10	16	751361	85,478	92,489	-7,511	-10,87	3,66
11	24	748550	85,177	92,163	-7,837	-11,18	3,66

Keterangan : Sisplatin kurang stabil dalam campuran larutan infus sisplatin 92,42 ppm dengan ondansetron HCl 59,15 ppm dengan penurunan konsentrasi sebesar 11,18 % selama 24 jam.

Tabel 22 : Data Kestabilan Ondansetron HCl 59,15 ppm dalam Larutan Infus NaCl 0,9%

No.	Waktu (jam)	Luas puncak ( $\mu\text{v/s}$ )	Konsentrasi terukur (ppm)	% UPK	% diff	Perubahan konsentrasi (ppm)	pH
1	0	4056581	61,761	104,413	-0,410	0,00	3,91
2	0,5	4062305	61,848	104,562	-0,269	0,14	3,89
3	1	4082699	62,161	105,090	0,235	0,65	3,88
4	1,5	3847825	58,561	99,005	-5,569	-5,18	3,88
5	2	3796140	57,769	97,665	-6,847	-6,46	3,87
6	4	3718657	56,582	95,658	-8,762	-8,39	3,86
7	6	4033884	61,413	103,825	-0,971	-0,56	3,85
8	8	4098922	62,409	105,511	0,636	1,05	3,84
9	12	3918349	59,642	100,832	-3,826	-3,43	3,83
10	16	4120368	62,738	106,066	1,166	1,58	3,83
11	24	4071088	61,983	104,789	-0,052	0,36	3,81

Keterangan : Ondansetron HCl stabil dalam larutan infus NaCl 0,9% selama 24 jam.

Tabel 23 : Data Kestabilan Ondansetron HCl dalam Campuran Larutan Infus Sisplatin 94,42 ppm dengan Ondansetron HCl 59,15 ppm

No.	Waktu (jam)	Luas puncak ( $\mu\text{v/s}$ )	Konsentrasi terukur (ppm)	% UPK	% diff	Perubahan konsentrasi (ppm)	pH
1	0	4146895	63,145	106,754	6,754	0,00	4,43
2	0,5	4033491	61,407	103,815	3,815	-2,75	4,35
3	1	4242301	64,607	109,226	9,226	2,32	4,29
4	1,5	4194609	63,876	107,990	7,990	1,16	4,26
5	2	3987281	60,698	102,618	2,618	-3,87	3,8
6	4	3851476	58,617	99,099	-0,901	-7,17	3,78
7	6	3341834	50,806	85,894	-14,106	-19,54	3,75
8	8	3474174	52,835	89,323	-10,677	-16,33	3,74
9	12	3098380	47,075	79,586	-20,414	-25,45	3,67
10	16	3505469	53,314	90,134	-9,866	-15,57	3,66
11	24	3549280	53,986	91,269	-8,731	-14,51	3,66

Keterangan : Ondansetron HCl kurang stabil dalam campuran larutan infus sisplatin 92,42 ppm dengan ondansetron HCl 59,15 ppm dengan penurunan konsentrasi sebesar 14,51% selama 24 jam.

## Lampiran 1

Cara memperoleh regresi linier dari persamaan garis

$$Y = a + bx$$

a dan b adalah bilangan normal, dihitung dengan metode kuadrat terkecil (*least square*):

$$b = \frac{\sum_i^N \{(x_i - \bar{X})(y_i - \bar{Y})\}}{\sum_i^N (x_i - \bar{X})^2}$$

$$a = y - bx$$

Linieritas ditentukan berdasarkan nilai koefisien korelasi (r)

$$r = \frac{\sum_i^N \{(x_i - \bar{X})(y_i - \bar{Y})\}}{\sqrt{\left[ \sum_i^N (x_i - \bar{X})^2 \right] \left[ \sum_i^N (y_i - \bar{Y})^2 \right]}}$$

Keterangan : y = serapan

x = konsentrasi

a = *intersep*

b = *slope* = kemiringan

r = koefisien korelasi

N = jumlah data

x<sub>i</sub> = konsentrasi data ke i

y<sub>i</sub> = serapan pada data ke i



## Lampiran 2

a. Perhitungan linieritas dan batas kuantitasi (LOQ) dan batas deteksi (LOD) sisplatin.

Kadar ( $\mu\text{g/ml}$ )	Luas puncak ( $\mu\text{v/s}$ )
20	137673
40	327774
60	524873
80	705940
100	867646
120	1073122
140	1270048

Persamaan regresi :  $Y = 9340,34643 X - 46216,85714$

Koefisien korelasi :  $r = 0,9994$

Linieritas :  $S(y) = 11226,55485$

$S_{x0} = S(y)/b = 1,202$

$V_{x0} = \{S_{x0}/x\} \times 100\% = 1,502 \%$

Perhitungan batas kuantitasi (LOQ) dan batas deteksi (LOD)

$LOQ = 10 \times S(y)/b = 12,019 \text{ ppm}$

$LOD = 3 \times S(y)/b = 3,606 \text{ ppm}$

## Lampiran 2 (lanjutan)

b. Perhitungan linieritas dan batas kuantitasi (LOQ) dan batas deteksi (LOD) ondansetron HCl.

Kadar ( $\mu\text{g/ml}$ )	Luas puncak ( $\mu\text{v/s}$ )
5	357991
20	1334431
40	2686365
60	3913481
80	5136798
100	6632502

$$\text{Persamaan regresi linier: } Y = 29406,577 + 665197,143X$$

$$r = 0,9992$$

$$\text{Linieritas : } S(y) = 73967,875$$

$$S_{x0} = S(y)/b = 1,135$$

$$V_{x0} = \{S_{x0}/X\} \times 100\% = 2,232 \%$$

Perhitungan batas kuantitasi (LOQ) dan batas deteksi (LOD)

$$\text{LOQ} = 10 \times S(y)/b = 11,345 \text{ ppm}$$

$$\text{LOD} = 3 \times S(y)/b = 3,404 \text{ ppm}$$

Keterangan :

$S(y)$  = simpangan baku residual

$S_{x0}$  = standar deviasi dari fungsi

$V_{x0}$  = koefisien variasi dari fungsi

$X$  = rata-rata sumbu "x" axis

## Lampiran 3

## Cara perhitungan simpangan baku

$$\text{Rata-rata: } \bar{X} = \frac{\sum x}{n}$$

$$\text{Simpangan baku (SD)} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

$$\text{Koevisien Variasi (KV)} = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$$

## Cara perhitungan % diff

$$\text{Persen (\%) diff} = \frac{B - A}{A} \times 100\%$$

## Cara perhitungan uji perolehan kembali

$$\text{Uji perolehan kembali} = \frac{B}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

B = Konsentrasi sampel hasil penyuntikan (kromatogram)  
setelah luas puncak ( $\mu\text{V/s}$ ) diplotkan pada kurva kalibrasi

A = Konsentrasi sampel yang ditimbang

n = jumlah data

$\bar{X}$  = rata-rata konsentrasi data "X"

## Lampiran 4 : Sertifikat analisis sisplatin

# Certificate of Analysis

SIGMA-ALDRICH®

<b>Product Name</b>	<i>cis</i> -Diammineplatinum(II) dichloride, crystalline
<b>Product Number</b>	P4394
<b>Product Brand</b>	SIGMA
<b>CAS Number</b>	15663-27-1
<b>Molecular Formula</b>	Pt(NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>
<b>Molecular Weight</b>	300.05

TEST	SPECIFICATION	LOT 076K1697 RESULTS
APPEARANCE	YELLOW TO ORANGE POWDER	YELLOW WITH AN ORANGE CAST POWDER
SOLUBILITY	CLEAR TO SLIGHTLY HAZY YELLOW TO YELLOW-GREEN SOLUTION AT 50MG IN 3ML OF DIMETHYLFORMAMIDE	CLEAR YELLOW-GREEN
IDENTITY	PASSES BY ICP, IR OR NMR	IR SPECtrUM CONFORMS
ELEMENTAL ANALYSIS	9.2% TO 9.5% NITrOGEN	9.3%
ICP trACE ANALYSIS	NMT 100 PPM AU & AG. NMT 20 PPM ALL OTHER METALLIC IMPURITIES	CONFORMS*
PRODUCT CROSS REFERENCE INFORMATION		REPLACEMENT FOR ALDRICH #204072
NOTE		*SUPPLIER'S RESULTS
QC RELEASE DATE		AUGUST 2006



Rodney Burbach, Manager  
Quality Control  
St. Louis, Missouri USA

## Lampiran 5 : Sertifikat analisis natrium dietilditiokarbamat


**SIGMA-ALDRICH**

 Sigma-Aldrich Production GmbH  
 C 118-71 Buchs/Schweiz  
 www.sigma-aldrich.com

 Telefon +41 81 785 2511  
 Telefax +41 81 753 2272  
 Email: B.K.A@sigma.com

**Certificate of Analysis**

<b>Product Brand</b>	<b>Sigma-Aldrich</b>	
PRODUCT NO	D3508	
PRODUCT	SODIUM DIETHYL DITHIOCARBAMATE TRIHYDRATE	
FORMULA	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> NNaS <sub>2</sub> • 3H <sub>2</sub> O	
MOLECULAR MASS	225.31	
CAS NUMBER	20624-23-3	
LOT	1332445	
<b>Test</b>	<b>Specification</b>	<b>Result</b>
APPEARANCE (COLOR)	WHITE TO OFF WHITE	OFF WHITE
APPEARANCE (FORM)	POWDER	POWDER
TITRATION (NT) HCl 0.1 N	NOT LESS THAN 98 %	100.0 %
ASSAY (ATOMIC ABSORPT.)	9.95 % TO 10.40 %	10.4 %
SOLUBILITY (DMF)	FAINTLY YELLOW TO GREEN	VERY FAINTLY GREENISH-YELLOW (CY6)
SOLUBILITY (TURBIDITY)	SLIGHTLY HAZY	VERY FAINTLY HAZY
SOLUBILITY (METHOD)	1 G PLUS 10 ML OF WATER	--
WATER	20.0 % - 26.9 %	23.00 % GEW.
CARBON CONTENT	36.1 % - 37.2 %	36.60 % GEW.
NITROGEN CONTENT	5.9 % TO 6.5 %	6.26 % GEW.
DATE OF QC RELEASE	10/AUG/07	

 Dr. G. van Loock, Manager  
 Quality Control  
 Buchs, Switzerland

Sigma-Aldrich warrants, that its products conform to the information contained in this and other Sigma-Aldrich publications. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice for additional terms and conditions of sale. The values given on the 'Certificate of Analysis' are the results determined at the time of analysis.

## Lampiran 6 : Sertifikat analisis ondansetron HCl



Unit: 000 77 00 00  
 4001 Lugano, Switzerland  
 Tel: +41 91 922 21 11  
 Fax: +41 91 922 21 05  
 Shop: 001 00 00 00  
 Luxembourg VAT No. LU 21478587

## CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product: ONDANSERON HCl, Bioteknik

Batch . . . . . : 4701682001

Quantity . . . . . : 2,00 KG

MFG. Date . . . . . : March 2001

Expiry Date . . . . . : March 2002

T E S T	SPECIFICATION	RESULTS
DESCRIPTION	White to off-white crystalline powder	Conforms
IDENTIFICATION	IR: Similar to the reference standard Test for chloride	Conforms Conforms
LOSS ON DRYING	9.3 - 10.5 %	10.24 %
RESIDUE ON IGNITION	Not more than 0.3 %	Conforms
PH	4.30 - 4.90	4.43
LIMIT OF OGDANSERON RELATED COMPOUND	Not more than 0.1 %	Conforms
HEAVY METALS	Not more than 10 ppm	Conforms
RELATED SUBSTANCES	12 by HPLC Any individual impurity: n.m.t. 0.2 % Total Impurities: n.m.t. 0.2 %	Conforms Conforms
ASSAY	98.0 - 102.0 % on anhydrous basis	99.3 %
PARTICLE SIZE	15 % < 200 microns	Conforms
REMARKS	This product complies with USP23	
STORAGE CONDITIONS	Hygrosopic: Preserve in tight container Photosensitive: Protect from light	

The above data results have been received from the Quality Control Dept.

Technical Manager's Signature  
 CHEMO LUGANO BRANCH



www.chemogroup.com