

Aplikasi Pengembangan Metode Spektrofotometri UV-Vis pada Analisis Simultan Isoniazid (INH) dan Vitamin B6 di dalam Sediaan Tablet

Lisda Rimayani Nasution^{1*}, Muchlisyam¹, Effendy De Lux Putera¹

Artikel Penelitian

Abstract: Primary antituberculosis as the standard therapy of tuberculosis are often used in combination dosage form. It's used to obtain effectiveness treatment and prevent the emergence of resistance. One form of this combination is a combination of INH and vitamin B6. This combination aims to prevent the side effects of INH, namely peripheral neuritis. The combination could give problems in quality control. The aims of this research is to develop a spectrophotometric method by mean centering of ratio spectra to analysis simultaneous isoniazid and vitamin B6 in tablet dosage form without prior separation. Research carried out by development of spectrophotometric method to applied determining the levels of isoniazid and vitamin B6 in tablet by mean centering of ratio spectra. Then, tested its validity based on linearity, accuracy, precision, LOD and LOQ. The results showed that applications mean centering of ratio spectra technique on assay of isoniazid and vitamin B6, have successfully applied to analyze pharmaceutical formula simultaneously with no interference from excipients as indicated by all validation parameters were within the acceptable range.

Keywords: isoniazid (INH), vitamin B6 (pyridoxin HCl), mean centering of ratio spectra (MCR)

Abstrak: Obat anti tuberkulosis primer sebagai standar terapi tuberkulosis sering digunakan dalam bentuk kombinasi untuk memperoleh efektivitas pengobatan dan mencegah timbulnya resistensi. Salah satu bentuk kombinasi tersebut adalah kombinasi INH dan vitamin B6. Kombinasi ini bertujuan untuk mencegah efek samping dari INH yaitu neuritis perifer. Namun, kombinasi bahan aktif tersebut dapat menimbulkan masalah dalam analisis kuantitatif untuk kontrol kualitas sediaan. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode spektrofotometri UV-Vis secara *mean centering of ratio spectra* pada analisis isoniazid dan vitamin B6 secara simultan pada sediaan tablet tanpa adanya pemisahan. Penelitian dilakukan dengan mengembangkan metode spektrofotometri teknik *mean centering of ratio spectra* pada analisis simultan INH dan vitamin B6 pada sediaan tablet, kemudian dilakukan uji validitas metodenya berdasarkan parameter validasi yaitu linearitas, akurasi, presisi, selektivitas dan sensitivitas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi secara *mean centering of ratio spectra* pada penetapan kadar INH dan vitamin B6 berhasil diterapkan untuk analisis formulasi farmasi secara simultan, tanpa gangguan dari excipien serta hasil parameter validasi berada dalam kisaran yang dapat diterima.

¹ Departemen Kimia Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas
Sumatera Utara, Medan,
Sumatera Utara, Indonesia

Korespondensi:

Lisda Rimayani Nasution
lisda.rimayani@usu.ac.id

Kata kunci: isoniazid (INH), vitamin B6 (pyridoxin HCl), *mean centering of ratio spectra* (MCR).

Pendahuluan

Isoniazid (INH), rifampisin, etambutol dan pirazinamid adalah kelompok obat anti tuberkulosis primer dalam standar terapi tuberkulosis. Berdasarkan sifat kuman tuberkulosis, maka salah satu prinsip yang digunakan adalah penggunaan kombinasi obat (1). Salah satu bentuk kombinasi tersebut adalah kombinasi INH dan vitamin B6; kombinasi INH, etambutol dan vitamin B6 (1). Bentuk kombinasi ini bertujuan untuk memperoleh efektivitas pengobatan dan mencegah timbulnya resistensi. Kombinasi bahan aktif dapat menimbulkan masalah dalam analisis kuantitatif untuk kontrol kualitas sediaan karena sifat fisikokimia senyawa yang terkandung hampir sama, atau profil kurva serapan masing-masing komponen saling tumpang tindih pada daerah tertentu sehingga serapan yang diperoleh merupakan jumlah serapan dari masing-masing komponen tersebut.

Penetapan kadar zat berkhasiat dalam berbagai sediaan obat merupakan bagian yang penting di instansi yang melakukan penetapan kadar obat seperti Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) dan industri farmasi sehingga diperlukan metode analisis dengan alat dan biaya operasional yang relatif lebih murah, serta pelaksanaan yang lebih mudah, tetapi dapat memberikan hasil dengan akurasi dan presisi yang baik (2) Spektrofotometri merupakan metode yang sederhana, cepat dan relatif lebih murah bila dibandingkan dengan metode lainnya (3). Namun, analisis kuantitatif secara simultan untuk sediaan farmasi yang mengandung banyak zat aktif sulit dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri yang klasik, dikarenakan adanya spektrum yang saling tumpang tindih (4).

Berbagai penelitian penetapan obat anti tuberkulosis yang dikombinasikan telah banyak dilakukan. Penetapan kadar campuran vitamin B6, INH dan rifampisin dengan menggunakan Kromatografi Cair Lapis Tipis Kinerja Tinggi (KCLTKT) (5). Metode ini memerlukan waktu yang cukup lama untuk proses preparasi sampel karena adanya tahap ekstraksi pelarut, pemanasan, dan *degassing*. Selain itu, metode ini juga memerlukan biaya yang cukup mahal karena menggunakan banyak pelarut (5).

Penelitian dalam penetapan kadar campuran INH, pirazinamide dan rifampisin pada sediaan tablet secara spektrofotometri ultraviolet dengan metode kemometrik. Metode ini tidak memerlukan waktu preparasi sampel yang lama dan pelarut yang banyak tetapi memerlukan proses perhitungan matematika yang rumit pada tahap analisisnya(6). Penelitian pada penetapan kadar campuran isoniazid dan vitamin B6 pada sediaan sirup secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) . Metode ini memerlukan proses preparasi sampel yang lama karena dilakukan tahap pemisahan dan pelarut yang banyak (7).

Metode spektrofotometri secara *mean centering of ratio spectra* (MCR) adalah salah satu metode spektrofotometri yang dapat digunakan untuk analisis campuran beberapa zat secara langsung tanpa harus melakukan pemisahan dan derivatisasi terlebih dahulu walaupun dengan panjang gelombang yang (3) (8). Bila dibandingkan dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT), metode spektrofotometri secara *mean centering of ratio spectra* (MCR) relatif lebih sederhana, alat dan biaya operasionalnya lebih murah dan waktu analisisnya lebih cepat(2)(9).

Penelitian yang dilakukan menggunakan dan mengembangkan metode spektrofotometri secara *Mean Centering of Ratio Spectra* (MCR) untuk penetapan kadar secara simultan dari *binary mixtures, ternary mixtures* maupun *multicomponent mixtures* pada berbagai sediaan obat tanpa langkah pemisahan maupun derivatisasi dahulu (10)(11)(8). *Mean centering of ratio spectra* pada penetapan kadar lima campuran obat sekaligus menunjukkan hasil yang baik (12).

Berdasarkan uraian diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang aplikasi pengembangan metode spektrofotometri ultraviolet dengan teknik *mean centering of ratio spectra* (MCR) pada analisis secara simultan kadar INH dan vitamin B6 tanpa adanya tahap pemisahan pada sediaan tablet. Metode ini selanjutnya divalidasi untuk membuktikan bahwa hasil yang diberikan memiliki kecermatan dan ketelitian yang memadai.

Bahan dan Metode

Bahan

INH (BPFI), Vitamin B6 (BPFI), metanol (E-Merck), akuabidestilata (PT. Ika Pharmindo), natrium hidroksida (E-Merck) 0,1 N, kalium dihidrogenfosfat (E-Merck) 0,1 M, kertas saring whatman no. 42, kertas perkamen, tablet Pehadoxin Forte® (Phapros), dan tablet TB Vit 6® (Landson).

Alat

Spektrofotometer UV-Vis 1800 (Shimadzu) serta seperangkat *Personal Computer (PC)* yang dilengkapi dengan *software UV-Probe 2.34*, Microsoft Excel dan SPSS 20, Matlab® versi R2016a, kuvet 1 cm, alat-alat gelas (Oberoi), lumpang dan alu, neraca analitik (Boeco), sonikator (Branson 1510), pH meter (Hanna).

Metode

Optimasi pelarut

Dilakukan optimasi dengan mengukur serapan yang dihasilkan oleh INH dan vitamin B6 dalam metanol, dan campuran metanol : dapar fosfat pH 4; pH 5; pH 6 pada perbandingan (90:10; 70:30; 50:50).

Pembuatan spektrum serapan INH

Dipipet masing-masing 0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,5 mL dari larutan induk baku INH (100µg/mL) kedalam labu ukur 10 mL, kemudian dicukupkan volumenya dengan menggunakan pelarut sampai garis tanda untuk mendapatkan larutan INH konsentrasi 5; 7,5; 10; 12,5; 15 µg/mL secara berturut-turut. Dari larutan-larutan tersebut dibuat spektrum serapannya.

Pembuatan spektrum serapan Vitamin B6

Dipipet masing-masing 0,6; 0,9; 1,2; 1,5; 1,8 mL larutan induk baku vitamin B6 (100µg/mL) kedalam labu ukur 10 mL, kemudian dicukupkan volumenya dengan menggunakan pelarut sampai garis tanda untuk mendapatkan larutan vitamin B6 konsentrasi 6; 9; 12; 15; 18µg/mL secara berturut-turut. Dari larutan-larutan tersebut dibuat spektrum serapannya.

Pembuatan spektrum serapan campuran INH dan vitamin B6

Dibuat larutan campuran INH dan vitamin B6 dengan cara dipipet 1,25 mL larutan induk baku INH (100µg/mL) dan 1,3 mL larutan induk baku vitamin B6 (100µg/mL) ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian dicukupkan volumenya menggunakan pelarut sampai garis tanda untuk mendapatkan larutan yang mengandung campuran INH dan vitamin B6 dengan konsentrasi 10µg/mL dan 12µg/mL secara berurutan. Dari larutan tersebut dibuat spektrum serapannya.

Pembuatan spektrum serapan rasio INH

Spektrum serapan INH dibagi dengan spektrum serapan vitamin B6 konsentrasi 12µg/mL dengan bantuan *software UV Probe 2.34* dimana spektrum serapan INH yang telah disimpan dimanipulasi dengan tipe *data set* kemudian dipilih operasi pembagian (*division*) dengan tujuan untuk membagi spectrum INH dengan vitamin B6. Pembuatan spektrum serapan rasio vitamin B6 dilakukan sebanyak lima kali pengulangan.

Pembuatan spektrum serapan rasio vitamin B6

Spektrum serapan vitamin B6 dibagi dengan spektrum serapan INH konsentrasi 10µg/mL dengan bantuan *software UV Probe 2.34* dimana spektrum serapan vitamin B6 yang telah disimpan dimanipulasi dengan tipe *data set* kemudian dipilih operasi pembagian (*division*) dengan tujuan untuk membagi spektrum vitamin B6 dengan INH. Pembuatan spektrum serapan rasio vitamin B6 dilakukan sebanyak lima kali pengulangan.

Pembuatan spektrum serapan rasio campuran INH dan vitamin B6

Spektrum serapan campuran INH dan vitamin B6 dibagi masing-masing dengan spektrum serapan INH konsentrasi 10µg/mL untuk penetapan kadar vitamin B6 dan untuk penetapan kadar INH spektrum serapan campuran INH dan vitamin B6 dibagi dengan spektrum serapan vitamin B6 konsentrasi 12µg/mL pembagian spektrum dilakukan dengan bantuan *software UV Probe 2.34* dimana spektrum serapan campuran yang telah disimpan dimanipulasi dengan tipe *data set*.

Pembuatan Spektrum Serapan INH Metode Mean Centering of Ratio Spectra (MCR)

Spektrum serapan INH dibagi dengan spektrum serapan Vitamin B6 konsentrasi 12 µg/mL dengan bantuan *software UV Probe 2.34* untuk mendapatkan rasio spektra yang kemudian dimeancenteredkan dengan bantuan MatlabR 2016a.

Pembuatan Spektrum Serapan Vitamin B6 Metode Mean Centering of Ratio Spectra (MCR)

Spektrum serapan vitamin B6 dibagi dengan spektrum serapan INH konsentrasi 10 µg/mL dengan bantuan *software UV Probe 2.34* untuk mendapatkan rasio spektra yang kemudian dimeancenteredkan dengan bantuan MatlabR 2016a.

Pembuatan kurva kalibrasi metode Mean Centering of Ratio Spectra (MCR) INH

Nilai *mean centered* (MC) dari rasio spektra pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh, dihitung dan diplot dengan konsentrasi untuk mendapatkan persamaan garis regresinya.

Pembuatan kurva kalibrasi metode Mean Centering of Ratio Spectra (MCR) Vitamin B6

Nilai *mean centered* (MC) dari rasio spektra pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh, dihitung dan diplot dengan konsentrasi untuk mendapatkan persamaan garis regresinya.

Validasi metode

Linearitas, batas deteksi (Limit of Detection, LOD) dan batas deteksi (Limit of Quantification, LOQ)

Dipipet masing-masing (0,5; 0,75; 1,0; 1,25; 1,5) mL larutan induk baku INH (100 µg/mL) ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian dicukupkan volumenya dengan menggunakan pelarut sampai garis tanda untuk mendapatkan larutan INH konsentrasi (5; 7,5; 10; 12,5; 15) µg/mL secara berturut-turut.

Dipipet masing-masing (0,6; 0,9; 1,2; 1,5; 1,8) mL larutan induk baku vitamin B6 (100 µg/mL) ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian dicukupkan volumenya dengan menggunakan pelarut sampai garis tanda untuk mendapatkan

larutan vitamin B6 konsentrasi (6; 9; 12; 15; 18) µg/mL secara berturut-turut.

Larutan-larutan di atas dilihat serapannya pada λ analisis masing-masing zat yang telah ditentukan. Kemudian ditentukan spektrum serapan campuran INH dan vitamin B6 dengan bantuan *software UV Probe 2.34* dimana spektrum serapan campuran yang telah disimpan dimanipulasi dengan tipe *data set*. Selanjutnya data yang diperoleh dimeancenteredkan dengan bantuan MatlabR 2016a. Nilai *mean centered* (MC) dari rasio spektra pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh, dihitung dan diplot dengan konsentrasi untuk mendapatkan persamaan garis regresinya.

Uji perolehan kembali

Uji perolehan kembali dilakukan dengan pengukuran persentase perolehan kembali pada tiga daerah spesifik, yakni: 80%, 100% dan 120%. Dimana pada masing-masing daerah spesifik digunakan 70% sampel (INH dan vitamin B6 yang berasal dari tablet) yang dianalisis dan 30% berasal dari baku yang akan ditambahkan. Kemudian campuran sampel (tablet) dan baku dianalisis dengan prosedur yang sama seperti pada sampel. Dihitung nilai presentase perolehan kembali, presentase simpangan baku relatifnya atau koefisien variasi sebagai parameter akurasi dan presisi (13).

Penetapan kadar campuran INH dan vitamin B6 pada sediaan tablet

Disaring larutan dengan kertas saring whatman® no. 42, dibuang 10 mL filtrat pertama. Dipipet 0,4 mL filtrat ke dalam labu ukur 25 mL, ditambahkan dengan pelarut sampai garis tanda. Absorbansinya kemudian diukur sesuai dengan prosedur hasil optimasi dengan menggunakan metode *mean centering of ratio spectra* (MCR).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Spektrum Serapan dan Spektrum Campuran

Spektrum serapan INH maupun Vitamin B6 dengan berbagai konsentrasi stabil dalam pelarut methanol. Spektrum campuran INH dan Vitamin B6 ini akan menghasilkan spektrum yang berbeda dengan spektrum masing-masing dari INH dan Vitamin B6 (**Gambar 1**), hal ini dikarenakan spektrum campuran merupakan

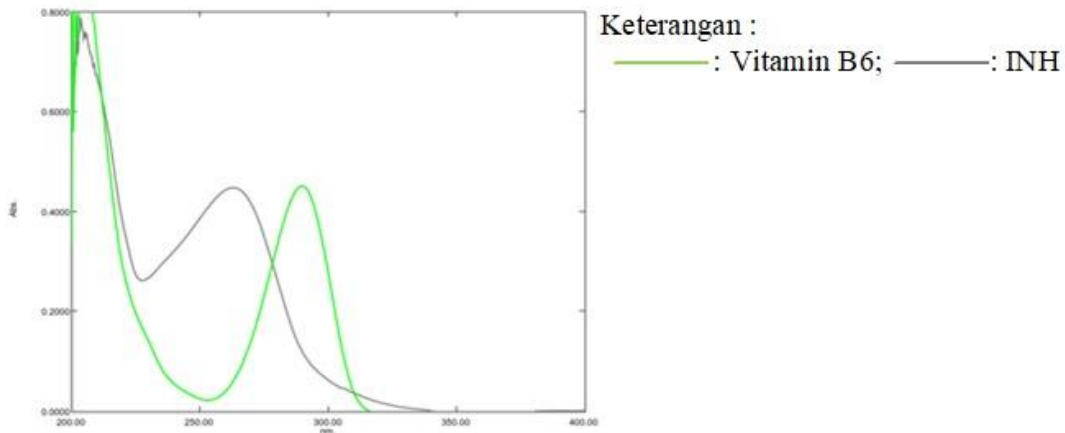
kombinasi dari spektrum zat yang menyusunnya. Spektrum serapan campuran baku INH dan Vitamin B6 dapat dilihat pada **Gambar 2**.

Metode Mean Centering of Ratio Spectra (MCR)

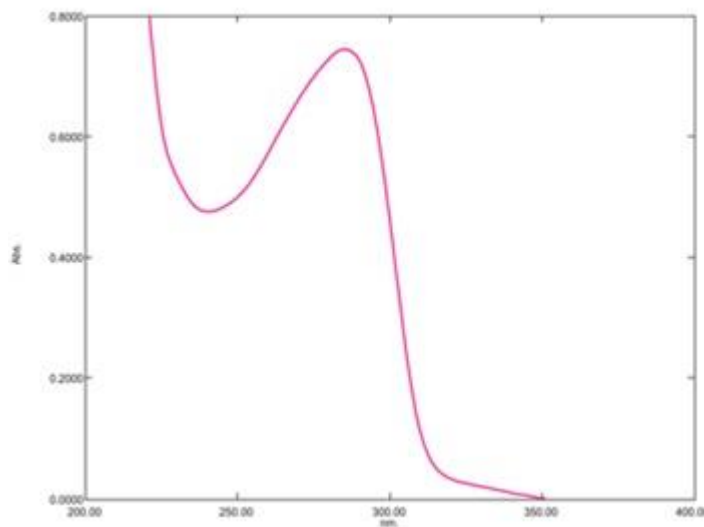
Metode spektrofotometri ultraviolet konvensional tidak dapat dilakukan untuk menetapkan INH maupun Vitamin B6 dalam campuran karena spektrum INH dan Vitamin B6 saling tumpang tindih, sehingga absorbansi pada λ spektrum campuran INH dan Vitamin B6 tidak menggambarkan besar konsentrasi masing-masing zat tersebut dalam campurannya. Berbeda dengan metode spektrofotometri ultraviolet konvensional, metode

spektrofotometri ultraviolet secara *mean centering of ratio spectra* (MCR) memungkinkan untuk menetapkan kadar suatu zat dalam campuran zat tersebut dengan zat lainnya, karena metode ini memungkinkan pemisahan spektrum campuran sehingga penetapan kadar zat tunggal dalam campurannya dapat dilakukan.

Metode MCR diawali dengan membuat spektrum rasio dan memilih konsentrasi pembagi. Penentuan konsentrasi pembagi diambil dari rentang konsentrasi yang memenuhi hukum Lambert-Beer (14). Konsentrasi pembagi yang digunakan dalam penelitian ini adalah INH (10 $\mu\text{g/ml}$) dan Vitamin B6 (12 $\mu\text{g/ml}$).



Gambar 1. Spektrum Tumpang Tindih INH dan Vitamin B6



Gambar 2. Spektrum Campuran Baku INH dan Vitamin B6

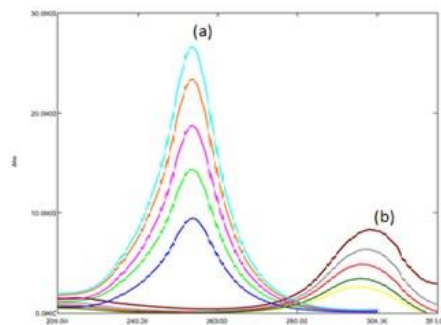
Dasar pemilihan konsentrasi pembagi adalah tidak terdapat perbedaan pada letak panjang gelombang maksimum dari zat-zat yang dibagi spektrumnya, yang berbeda hanya nilai absorbansi yang dihasilkan(15).

Pembuatan spektrum rasio dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan pengaruh spektrum yang digunakan sebagai pembagi dalam spektrum campurannya. Spektrum tumpang tindih rasio INH dan Vitamin B6 dapat dilihat pada **Gambar 3**. Dari **Gambar 3** ini dapat disimpulkan bahwa pengaruh spektrum dari kedua zat tidak saling mengganggu untuk analisis. Metode spektrum rasio, digabungkan dengan metode *mean centering* akan menghasilkan metode *mean centering of ratio spectra*, yang dapat menganalisis campuran yang terdiri dari dua zat yang memiliki spektrum yang saling tumpang tindih yaitu dengan cara menghilangkan pengaruh satu zat dengan membaginya dengan sebuah pembagi (*division*), kemudian diikuti dengan proses *mean-centered* yang akan memberikan nilai *mean-centered* untuk zat yang akan ditentukan kadarnya.

Dasar pemilihan konsentrasi pembagi adalah bahwa tidak terdapat perbedaan pada letak λ maksimum dari zat-zat yang dibagi spektrumnya, yang berbeda hanya tinggi puncak atau nilai absorbansi yang akan dihasilkan dan rentang konsentrasi yang memenuhi hukum Lambert-Beer (16). Kemudian setiap spektrum yang didapatkan dibagi dengan pembaginya, dimana pada penelitian ini untuk menentukan INH, yang digunakan sebagai pembagi adalah Vitamin B6, untuk menentukan Vitamin B6, yang digunakan sebagai pembagi adalah INH. Spektrum rasio didapatkan setelah spektrum dibagi dengan pembaginya masing-masing.

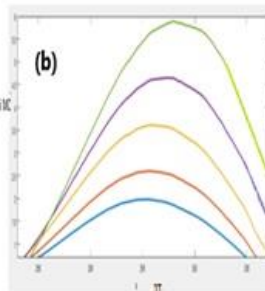
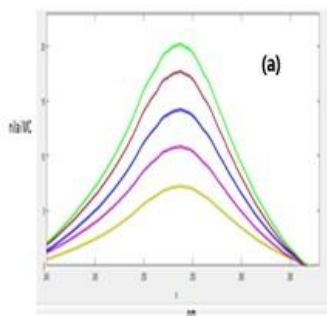
Hasil MCR INH dan Vitamin B6

Pembuatan spektrum MCR merupakan kelanjutan dari spektrum rasio INH dan Vitamin B6 dengan bantuan *software* MatlabR 2016a sehingga diperoleh nilai *mean centered* (MC) dan panjang gelombang maksimum dari masing-masing zat dalam campuran. Spektrum MCR baku INH dan Vitamin B6 dapat dilihat pada **Gambar 4**.



Keterangan :
 (a) Spektrum rasio INH dengan berbagai konsentrasi
 (b) Spektrum rasio Vitamin B6 dengan berbagai konsentrasi

Gambar 3. Tumpang tindih spektrum rasio INH dan Vitamin B6 dengan berbagai konsentrasi



Keterangan :
 (a): Spektrum MCR dari baku INH
 (b) Spektrum MCR dari Vitamin B6

Gambar 4. Spektrum MCR baku INH dan Vitamin B6

Penetapan kadar INH dan Vitamin B6, masing-masing dalam bentuk tunggal dapat ditetapkan dengan spektrofotometri ultraviolet dalam pelarut asam, INH pada panjang gelombang 266 nm dan Vitamin B6 pada panjang gelombang 290 nm (Moffat, dkk., 2004), sementara pada metode MCR diperoleh panjang gelombang maksimum untuk INH 253,80 nm, dan panjang gelombang maksimum untuk Vitamin B6 295,80 nm. Panjang gelombang yang diperoleh inilah yang digunakan sebagai panjang gelombang analisis. Berdasarkan hal di atas maka telah terjadi geseran batokromik (geseran merah/*red shift*) untuk Vitamin B6, dan telah terjadi geseran hipsokromik (geseran biru/*blue shift*) untuk INH. Geseran batokromik adalah geseran dari serapan ke panjang gelombang yang lebih panjang karena sisipan atau pengaruh pelarut (geseran merah/*red shift*). Geseran hipsokromik adalah geseran dari serapan ke panjang gelombang yang lebih pendek karena gugus ganti atau pengaruh pelarut (geseran biru/*blue shift*).

Validasi Metode

Berdasarkan validasi metode yang telah dilakukan secara MCR diperoleh nilai linieritas, akurasi, presisi, LOD dan LOQ untuk INH dan Vitamin B6 yang dapat dilihat pada **Tabel 1**. **Tabel 1** memperlihatkan bahwa MCR memenuhi syarat validasi untuk parameter linieritas, akurasi, presisi serta batas deteksi (LOD), batas kuantifikasi (LOQ).

Nilai linieritas yang digambarkan adalah nilai koefisien korelasi yang mendekati angka satu yang menunjukkan bahwa terdapat hubungan atau korelasi yang sangat baik antara konsentrasi dengan nilai absorbansi. Hal ini juga menandakan bahwa semakin meningkat konsentrasi maka nilai absorbansi pun akan meningkat.

Akurasi atau uji perolehan kembali merupakan parameter yang pengujiannya dilakukan dengan metode penambahan baku pada rentang tertentu terhadap sampel, kemudian keduanya diukur, baku yang ditambahkan dihitung kembali kembalinya. Nilai akurasi yang ditunjukkan pada **Tabel 1** merupakan rata-rata nilai kembalian dari tiga rentang spesifik dengan tiga kali pengulangan. Dalam hal ini tiga rentang spesifik yang

digunakan adalah 80%, 100% dan 120% dimana komposisinya terdiri dari 70% sampel dan 30% baku. Nilai akurasi yang didapatkan menunjukkan bahwa metode ini memenuhi syarat validasi metode (syarat nilai akurasi adalah 98%-102%) (17).

Presisi merupakan parameter yang menunjukkan keterdekatan hasil analisis yang dilakukan dalam beberapa kali pengulangan. Presisi menunjukkan bahwa metode tersebut memberikan hasil yang saling berdekatan walaupun diuji dalam beberapa replikasi. Parameter presisi dicerminkan dari nilai RSD yang dihasilkan, dari hasil yang ditunjukkan pada **Tabel 1**, metode ini memenuhi syarat validasi (RSD <3.9%) (18).

Sensitivitas metode analisis dinyatakan dengan nilai LOD dan LOQ. Semakin kecil nilai LOD dan LOQ maka semakin sensitif suatu metode analisis.

Nilai LOD dan LOQ yang terdapat pada **Tabel 1** menunjukkan bahwa metode ini memiliki nilai LOD dan LOQ yang kecil sehingga dapat dinyatakan bahwa metode ini memiliki sensitivitas yang baik (19).

Kadar INH dan Vitamin B6

Kadar INH dan Vitamin B6 dalam sediaan tablet berdasarkan hasil analisis secara MCR dapat dilihat pada **Tabel 2**. **Tabel 2** menunjukkan bahwa MCR dapat diaplikasikan untuk menetapkan kadar INH dan Vitamin B6 dalam sediaan tablet karena memenuhi persyaratan dimana kadar zat dari hasil analisis berada dalam rentang 90-110%.

Berdasarkan hasil yang diberikan oleh metode ini, baik dari segi nilai dalam uji validasi maupun hasil untuk analisis sampel yang terdapat di pasaran menunjukkan bahwa metode ini merupakan metode yang potensial digunakan dalam analisis rutin obat, khususnya obat yang mengandung kombinasi beberapa obat. Metode ini mudah dalam pengerjaannya khususnya untuk analisis rutin dan tidak memerlukan pengkondisian alat yang lama. Namun, metode ini memiliki kelemahan yaitu sulit untuk mendapatkan panjang gelombang analisis untuk masing-masing zat yang akan dianalisis.

Tabel 1. Nilai linieritas, akurasi, Presisi, LOD dan LOQ untuk INH dan Vitamin B6

No.	Parameter	INH	Vitamin B6
1	Linieritas	0,9988	0,9968
2	Akurasi (%)	101,21	100,43
3	Presisi (RSD) (%)	0,85	1,43
4	LOD (µg/mL)	0,8812	17,327
5	LOQ (µg/mL)	29,373	57,757

Keterangan :MCR : Metode Mean Centering of Ratio Spectra

Tabel 2. Kadar INH dan Vitamin B6 dalam sediaan tablet

No.	Sediaan Tablet	Komponen	Kadar (mg)	Klaim di Label (mg)	Syarat (mg)
1	Tablet Pehadoxin Forte®	INH	374,76 ± 0,50	400	360 - 440
		Vitamin B6	9,87 ± 0,89	10	9 - 11
2	Tablet TB Vit 6®	INH	380,64 ± 0,10	400	360 - 440
		Vitamin B6	25,65 ± 0,91	25	22,5 -27,50

Kesimpulan

Metode spektrofotometri ultraviolet secara MCR dapat digunakan untuk menetapkan kadar INH dan vitamin B6 secara simultan dan memenuhi syarat validasi metode. Metode spektrofotometri ultraviolet secara MCR ini dapat digunakan untuk menetapkan secara simultan kadar INH dan vitamin B6 dalam sediaan tablet di pasaran dengan cara yang sederhana, akurat, dan tepat serta tidak memerlukan proses pemisahan sehingga biaya yang diperlukan relatif lebih rendah. Metode ini dapat diterapkan dalam *Quality Control* rutin di laboratorium untuk menganalisis campuran biner senyawa obat secara simultan.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang terlibat dalam penelitian ini, khususnya kepada seluruh staf Laboratorium Penelitian dan Departemen Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.

Referensi

1. Chellini PR, Mendes TO, Franco PHC, Porto BLS, Tippavajhala VK, César IC, et al.

Simultaneous determination of rifampicin, isoniazid, pyrazinamide and ethambutol in 4-FDC tablet by Raman spectroscopy associated to chemometric approach. *Vib Spectrosc* [Internet]. 2017;90:14–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vibspec.2017.03.001>

- Lotfy HM, Saleh SS. Recent development in ultraviolet spectrophotometry through the last decade (2006–2016): A review. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2016;8(10):40–56.
- Kamal AH, El-Malla SF, Hammad SF. A Review On UV Spectrophotometric Methods For Simultaneous Multicomponent Analysis. *Eur J Pharm Med Res*. 2016;3(2):348–60.
- Hajian R, Afshari N. The spectrophotometric multicomponent analysis of a ternary mixture of ibuprofen, caffeine and paracetamol by the combination of double divisor-ratio spectra derivative and H-point standard addition method. *E-Journal Chem*. 2012;9(3):1153–64.
- Mathew M, Puthusseri S. 2014. *Validated Hptlc Method For Simultaneous Estimation Of Tolperisone Hydrochloride And Paracetamol*

In Tablet Dosage Form.

6. Asadpour-Zeynali K, Saeb E. Simultaneous Spectrophotometric Determination of Rifampicin, Isoniazid and Pyrazinamide in a Single Step. *Iran J Pharm Res IJPR*. 2016;15(4):713–23.
7. Budiarti A, Herdiyanti N. 2018. *Validasi Metode Penetapan Kadar Isoniazid Dan Vitamin B6 Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Serta Aplikasinya Dalam Sediaan Sirup Obat Tuberkulosis*.
8. Nejem RM, Issa MM, Shanab AA, Shaat NT. Double divisor mean centering of ratio spectra as a developed spectrophotometric method for the analysis of five-component mixture in drug analysis. *J Saudi Chem Soc* [Internet]. 2017;21:S283–92. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319610314000477>
9. Tarigan VW. 2019. *Penetapan Kadar Hidrokortison Asetat dan Neomisin Sulfat dalam Sediaan Krim Secara Spektrofotometri Ultraviolet dengan Metode Mean Centering of Ratio Spectra*.
10. Darwish HW, Hassan SA, Salem MY, El-Zeiny BA. Three different spectrophotometric methods manipulating ratio spectra for determination of binary mixture of Amlodipine and Atorvastatin. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2011 Dec;83(1):140–8.
11. Hegazy MA, Abdelwahab NS, Fayed AS. A novel spectral resolution and simultaneous determination of multicomponent mixture of Vitamins B1, B6, B12, Benfotiamine and Diclofenac in tablets and capsules by derivative and MCR–ALS. *Spectrochim Acta Part A Mol Biomol Spectrosc* [Internet]. 2015;140:524–33. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386142514018964>
12. Issa MM, Nejem RM, Shanab AMA, Shaat NT. Resolution of five-component mixture using mean centering ratio and inverse least squares chemometrics. *Chem Cent J* [Internet]. 2013;7(1):152. Available from: <https://doi.org/10.1186/1752-153X-7-152>
13. Sharma S, Goyal S, Chauhan K. A review on analytical method development and validation. *Int J Appl Pharm*. 2018;10(6):8–15.
14. Hoang VD. Simultaneous Determination of Paracetamol and Caffeine in tablets by Mean Centering and Derivative Transforms of UV Ratio Spectra. *Asian J Res Chem*. 2014;7:561–4.
15. Saraan SM, Sinaga M, Bachri M. Development method for determination of ternary mixture of paracetamol, ibuprofen and caffeine in tablet dosage form using zero-crossing derivative spectrophotometric. *Int J PharmTech Res*. 2015;7:349–53.
16. Abdel-Hay MH, Gazy AA, Hassan EM, Belal TS. Derivative and Derivative Ratio Spectrophotometric Analysis of Antihypertensive Ternary Mixture of Amiloride Hydrochloride, Hydrochlorothiazide and Timolol Maleate. *J Chinese Chem Soc* [Internet]. 2008;55(5):971–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jccs.200800144>
17. Rao PV, Harini K, Chaithanya GV, Reddy NS, Sireesha A. Method Development and Validation of UV Spectro Photometric Method for Determination of Diazepam in its Pure and Pharmaceutical Dosage Form. *ARC J Pharm Sci*. 2018;4(2):18–23.
18. Sakur AA, Affas S. Validated Spectrophotometric Method To Determine Vardenafil and Sildenafil in Pharmaceutical Forms Using Potassium Iodide and Potassium Iodate. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2017;9(10):65.
19. Budiarti A, Afifah I. Validasi Metode Analisis Klorfeniramin Maleat Dan Guaifenesin Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Serta Aplikasinya Dalam Sediaan Sirup. *Ilmu Farm Farm Klin*. 2017;14(1):41–7.