

**VALIDASI METODE ANALISA PIROKSIKAM PADA SEDIAAN SELF NANO
EMULSIFYING DRUG DELIVERY SYSTEM (SNEDDS) MENGGUNAKAN
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

**VALIDATION OF PIROXICAM ANALYSIS METHOD IN SELF NANO
EMULSIFYING DRUG DELIVERY SYSTEM (SNEDDS) USING UV-VIS
SPECTROPHOTOMETRY**

¹Septiawan Adi Nugroho *, ²Reza Alrayan

Fakultas Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata, Jl. KH Wachid Hasyim No.65, Bandar Lor, Kec. Mojoroto, Kota Kediri, Jawa Timur 64114, Indonesia

Info Artikel

Sejarah Artikel :

Submitted: 17 Februari 2024

Accepted: 24 April 2024

Publish Online: 31 Mei 2024

Kata Kunci:

Piroksikam; SNEDDS;
Spektrofotometri; Validasi

Keywords:

*Piroxicam; SNEDDS;
Spectrophotometric;
Validation*

Abstrak

Latar belakang: Piroksikam salah satu obat anti inflamasi termasuk dalam golongan BCS kelas II yang memiliki kelarutan yang rendah pada air. Kelarutan piroksikam dapat ditingkatkan dalam bentuk *Self Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS). Pada SNEDDS tersusun dari beberapa komponen seperti minyak, surfaktan, dan kosurfaktan yang berpotensi mengganggu hasil analisa seperti pada analisa kadar piroksikam. **Tujuan:** Pada penelitian ini bertujuan melakukan validasi metode analisa piroksikam dalam formulasi SNEDDS menggunakan spektrofotometer UV-Vis. **Metode:** parameter *International Conference on Harmonization* (ICH) yaitu spesifisitas, linearitas, akurasi, presisi, LOD, dan LOQ. **Hasil:** parameter validasi memenuhi kriteria antara lain spesifitas yang baik, nilai akurasi pada rentang 90-107%, nilai presisi %RSD <2%, Nilai koefisien korelasi pada linieritas >0,997, dan LOD sebesar 0,256 µg/ml dan LOQ sebesar 0,778 µg/ml. **Simpulan:** Analisa piroksikam dalam SNEDDS dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis tervalidasi berdasar dari parameter spesifisitas, linearitas, akurasi, presisi, LOD, dan LOQ.

Abstract

Background: *Piroxicam, an anti-inflammatory drug, belongs to the BCS class II category and exhibits low solubility in water. The solubility of piroxicam can be enhanced in the form of SNEDDS (Self Nano Emulsifying Drug Delivery System). SNEDDS is composed of several components such as oil, surfactant, and co-surfactant, which have the potential to interfere with the analysis results, as in the analysis of piroxicam content. Objective: This study aims to validate the analysis method for piroxicam in SNEDDS formulation using UV-Vis spectrophotometer. Method: Based on International Conference on Harmonization (ICH) parameters, including specificity, linearity, accuracy, precision, LOD, and LOQ. Results: The research results all validation parameters meet the criteria. These include good specificity, accuracy values within the range of 90-107%, precision value with %RSD <2%, correlation coefficient value in linearity >0.997, LOD of 0.256 µg/ml, and LOQ of 0.778 µg/ml. Conclusions: Analysis of piroxicam in SNEDDS using UV-Vis spectrophotometry method is validated based on specificity, linearity, accuracy, precision, LOD, and LOQ parameters.*

PENDAHULUAN

Piroksikam adalah obat golongan nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) yang digunakan untuk mengurangi rasa sakit pada rheumatoid arthritis dan osteoarthritis yang termasuk dalam kelas II pada *Biopharmaceutical Classification System* (BCS) yang memiliki kelarutan air rendah (Nugroho et al., 2023). SNEDDS dianggap sebagai pendekatan yang potensial untuk meningkatkan kelarutan dan pelepasan obat karena berbasis lipid yang stabil secara fisik dan tidak membutuhkan proses emulsifikasi energi tinggi sehingga membutuhkan peralatan produksi yang relatif sederhana dan dapat mengurangi biaya produksi (Sriamornsak et al., 2015). SNEDDS merupakan suatu sistem campuran isotropik yang terdiri dari fase minyak sebagai pembawa obat, surfaktan sebagai emulgator yang menurunkan tegangan antar muka fase minyak dan air, dan ko-surfaktan sebagai emulgator yang membantu surfaktan dalam menjaga kestabilan pada lapisan film antara minyak dan air, bersama obat yang dengan cepat membentuk nanoemulsi berukuran 20-200 nm minyak dalam air (o/w) ketika dimasukkan ke dalam media cair (Morakul, 2020; Sockula and Gande, 2020).

Sediaan farmasi yang berkualitas haruslah menjamin khasiat dan keamanan dalam penggunaannya. Dalam menjamin kualitas obat dilakukan proses penjaminan mutu dari bahan baku hingga produk jadi baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Semua metode dalam pengujian obat harus tervalidasi untuk menjamin kebenaran hasil (Ramadhan and Musfiroh, 2021). Validasi metode analisa merupakan proses pengecekan ketelitian dan kemungkinan aplikasi metode analisis tersebut dalam konteks tertentu. Proses ini dilakukan untuk memastikan bahwa hasil analisis yang diperoleh dengan metode tersebut adalah akurat, tepat, dan relevan (Harmita, 2004).

Dengan variasi komponen penyusun pada SNEDDS piroksikam diperlukan pengembangan metode dan validasi metode untuk menganalisa piroksikam dalam bentuk SNEDDS menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Validasi metode analisa SNEDDS mengacu pada proses memastikan bahwa metode yang digunakan untuk mengukur kandungan dan karakteristik piroksikam dalam sistem SNEDDS telah memenuhi standar yang ditetapkan. Validasi metode ini melibatkan pengujian dan evaluasi berbagai parameter untuk memastikan keakuratan, keandalan, dan konsistensi metode tersebut. Pada penelitian ini bertujuan untuk memvalidasi metode analisa piroksikam dalam SNEDDS menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

METODE PENELITIAN

Metode validasi analisa yang digunakan berdasarkan pedoman *International Conference on Harmonization* (ICH) yaitu spesifisitas, linearitas, akurasi, presisi, LOD, dan LOQ (Miranda et al., 2021).

1. Spesifitas

Pengujian spesifitas dilakukan dengan membandingkan spektra UV pada dari baku piroksikam dengan matrik atau plasebo (Ferraz et al., 2015). Plasebo yang digunakan merupakan campuran komponen SNEDDS yang digunakan (triacetin, asam oleat, cremophor EL, tween 60, transcitol, dan PEG 400) diambil masing-masing 100 µl dan ditambahkan metanol hingga 5000 µl lalu dilihat spektra pada Panjang gelombang 200-400 nm.

2. Linieritas

Larutan baku piroksikam dibuat baku seri 4 ; 6 ; 8 ; 10 dan 12 ppm diukur serapan pada Panjang gelombang maksimum. Hasil serapan lalu dibuat hubungan regresi linier antara konsentrasi (ppm) dengan serapan. Linieritas dinilai baik jika nilai koefisien korelasi >0,997 (Nisa et al., 2021; Riyanto, 2014).

3. Akurasi dan Presisi

Membuat larutan baku induk piroksikam dengan menimbang 50 mg piroksikam lalu dilarutkan dengan metanol hingga 50 ml. Kemudian diambil dari baku induk sebanyak 20 ; 30 ; 40 µl dimasukkan kedalam vial campuran triacetin, asam oleat, crempohor EL, tween 60, transcitol, dan PEG 400 masing-masing 100 µl dan ditambahkan metanol hingga 5000 µl. Tiap vial dibaca pada panjang gelombang maksimum sebanyak tiga kali lalu dihitung simpangan baku relatif (RSD) dan perolehan kembali. Hasil disebut presisi jika nilai persen perolehan kembali pada rentang 90%-107% dan nilai %RSD kurang 2% (Harmita, 2004; Riyanto, 2014). Persen perolehan kembali dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% Recovery = \frac{\text{Kadar yang diperoleh}}{\text{Kadar yang sebenarnya}} \times 100 \%$$

Simpangan baku relatif dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$RSD = \frac{SD}{x} \times 100 \%$$

Keterangan:

RSD : Relative Standart Deviation

SD : Standart Deviation

X : Kadar rata-rata zat aktif

4. LOD dan LOQ

Limit of detection (LOD) atau batas deteksi dan *Limit of quantification* (LOQ) atau batas kuantifikasi ditentukan menggunakan standar deviasi dari respon dan slope dari regresi kurva kalibrasi. LOD dan LOQ merupakan dua parameter yang digunakan dalam analisis untuk menentukan batas deteksi suatu senyawa dan konsentrasi minimum yang dapat diukur dengan akurasi yang diterima, semakin kecil nilai LOD dan LOQ semakin sensitif metode analisis terhadap analit dengan konsentrasi yang kecil. Perhitungan LOD dan LOQ dapat dinyatakan sebagai berikut :

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

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

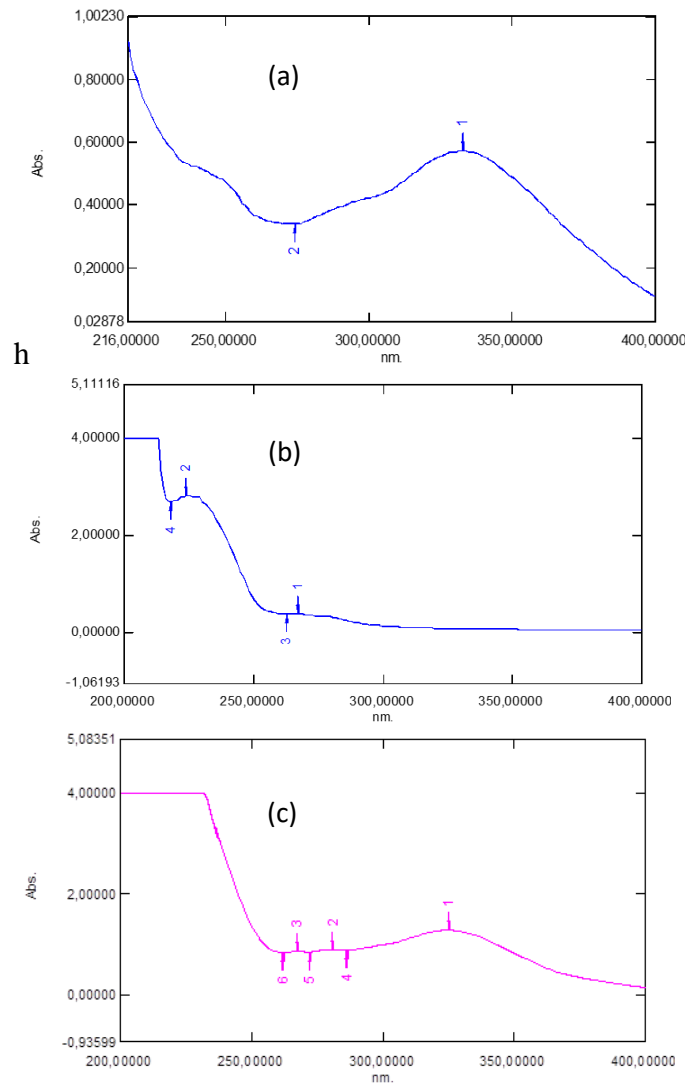
Dimana Sy adalah standar deviasi dan b adalah slope.

HASIL PENELITIAN

1. Spesifitas

Spesifitas dilakukan untuk membandingkan profil spektra antara spektra analit, plasebo, dan analit dalam plasebo.

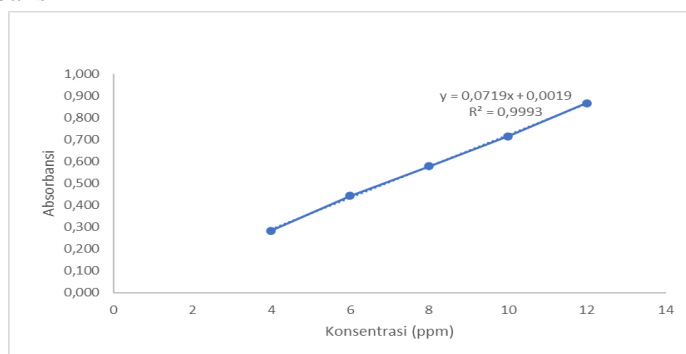
Bmn,n



Gambar 1. Spektra (a) piroksikam, (b) SNEDDS, (c) piroksikam dalam SNEDDS.

2. Linieritas

Pengujian dilakukan dengan menggunakan lima konsentrasi larutan baku (4, 6, 8, 10, dan 12 ppm) kemudian diplot dalam kurva kalibrasi dengan sumbu x adalah konsentrasi dan sumbu y adalah absorbansi



Gambar 2. Kurva kalibrasi piroksikam.

3. Akurasi dan Presisi

Tabel 1. Penentuan akurasi dan presisi

Kadar Penimbangan $\mu\text{g/ml}$	Kadar terukur $\mu\text{g/ml}$	%Perolehan kembali	Rata-rata %Perolehan kembali	%RSD
4	3,965	99,131	98,551 \pm 0,734	0,734
	3,910	97,740		
	3,951	98,783		
6	5,926	98,771	98,231 \pm 1,578	1,606
	5,787	96,453		
	5,968	99,467		
8	8,124	101,547	102,880 \pm 1,394	1,355
	8,346	104,329		
	8,221	102,764		

PEMBAHASAN

Validasi metode analisa merupakan proses pembuktian melalui pengujian analisis di laboratorium untuk memberikan data tentang kehandalan suatu metode analisa dari suatu prosedur yang digunakan (Musiam and Alfiian, 2017). Parameter validasi metode analisis yang dilakukan adalah akurasi, presisi, linearitas, *limit of detection* (LOD) dan *limit of quantitation* (LOQ).

Pada parameter spesifitas menggambarkan sejauh mana sampel dapat menentukan analit tertentu dalam kompleks campuran matriks bahan tambahan (Nisa et al., 2021). Spesifitas dilakukan perbandingan profil spektra antara spektra analit, placebo, dan analit dalam plasebo. Dari gambar 1 menunjukkan penambahan plasebo yang merupakan komponen penyusun SNEDDS tidak mempengaruhi serapan piroksikam pada area 333 nm. Selektivitas pada spektrofotometer UV-Vis didasarkan pada prinsip absorbansi molekuler, dalam hal ini molekul yang memiliki gugus fungsional, gugus kromofor, dan gugus auksokrom tertentu dalam senyawa akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu sementara molekul lain tidak sehingga spektrofotometer UV-Vis dapat membedakan antara komponen yang berbeda dalam campuran berdasarkan absorbansi spektrum mereka (Ferraz et al., 2015). Komponen SNEDDS tidak mempengaruhi serapan pada panjang gelombang maksimal piroksikam karena perbedaan struktur senyawa dengan piroksikam sehingga pada panjang gelombang 333 nm hanya puncak piroksikam yang terlihat.

Parameter linieritas dilakukan untuk memberikan gambaran metode analisis dalam memberikan respon proposional antara konsentrasi dan absorbansi analit dalam sampel (Ramadhan and Musfiroh, 2021). Pengujian dilakukan dengan menggunakan lima konsentrasi larutan baku (4, 6, 8, 10, dan 12 ppm) kemudian diplot dalam kurva kalibrasi dengan sumbu x adalah konsentrasi dan sumbu y adalah absorbansi pada gambar 2. Didapat persamaan kurva kalibrasi $y = 0,0719x + 0,0019$ dan nilai koefisien korelasi (r) = 0,9993. Nilai koefisien korelasi pada linieritas dapat menggambarkan ketelitian pengerjaan analisis suatu metode jika nilai koefisien korelasi $>0,997$ (Nisa et al., 2021; Riyanto, 2014).

Akurasi ditentukan dengan % perolehan kembali sedangkan presisi ditentukan dari % simpangan baku relatif (RSD) yang ditampilkan pada tabel 1. Nilai akurasi dapat menggambarkan ketepatan antara kadar terukur dengan kadar sebenarnya. Perolehan kembali yang dapat diterima pada konsentrasi analit antara $0,001 < A \leq 0,1$ (%) dalam matriks pada rentang 90-107%. Presisi merupakan nilai yang menggambarkan kesesuaian antara hasil uji individual yang diukur dari persebaran hasil secara berulang pada sampel yang homogen. Kriteria presisi diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (CV) kurang dari 2% (Harmita, 2004; Riyanto, 2014). Pada penelitian ini didapat nilai perolehan kembali masih dalam rentang keterimaan dan nilai RSD kurang dari 2%. Akurasi tinggi dalam suatu metode analisa menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh akurat dan mendekati nilai sebenarnya. Presisi tinggi dalam suatu metode analisa menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh konsisten dan stabil sementara presisi rendah menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh tidak konsisten dan mungkin tidak dapat diandalkan (Riyanto, 2014).

Limit of detection (LOD) atau batas deteksi dan *Limit of quantification* (LOQ) atau batas kuantifikasi ditentukan berdasarkan *signal to noise* dari standar deviasi respon dan nilai *slope* dari regresi kurva kalibrasi (Ramadhan and Musfiroh, 2021). Dari hasil perhitungan didapatkan LOD sebesar 0,256 µg/ml dan LOQ sebesar 0,778 µg/ml. LOD yang rendah menggambarkan metode analisa dapat mendeteksi konsentrasi analit yang sangat kecil dengan akurasi yang tinggi, sementara LOD yang tinggi menunjukkan bahwa metode analisa hanya dapat mendeteksi konsentrasi analit yang lebih tinggi dengan akurasi yang lebih rendah. LOQ yang rendah berarti bahwa metode analisa dapat mengukur konsentrasi analit yang sangat kecil dengan akurasi dan reproduksibilitas yang tinggi, sementara LOQ yang tinggi menunjukkan bahwa metode analisa hanya dapat mengukur konsentrasi spesimen yang lebih tinggi dengan akurasi dan reproduksibilitas yang lebih rendah (Harmita, 2004).

SIMPULAN

Analisa piroksikam dalam SNEDDS dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis tervalidasi berdasar dari parameter spesifisitas, linearitas, akurasi, presisi, LOD, dan LOQ.

SARAN

Diperlukan penelitian dalam pengembangan serta validasi metode analisa analisa piroksikam dalam SNEDDS dengan metode atau instrumentasi yang lain.

REFERENSI

Ferraz, R.S., Mendonça, E.A.M., Silva, J.P.A., Cavalcanti, I.M.F., Lira-Nogueira, M.C.B., Galdino, S.L., Pitta, I.R., Lima, M.D.C.A., Santos-Magalhães, N.S., 2015. Validation of a UV-spectrophotometric analytical method for determination of LPSF/AC04 from inclusion complex and liposomes. *Brazilian J. Pharm. Sci.* 51, 183–191. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502015000100018>

Harmita, 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi dan Cara Penggunaannya. *Maj. Ilmu Kefarmasian* 1, 117.

Miranda, C., Aceituno, A., Fernández, M., Mendes, G., Rodríguez, Y., Llauró, V., Cabrera-

- Pérez, M.Á., 2021. Ich guideline for biopharmaceutics classification system-based biowaiver (M9): Toward harmonization in Latin American countries. *Pharmaceutics* 13. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13030363>
- Morakul, B., 2020. Self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS): An advancement technology for oral drug delivery. *Pharm. Sci. Asia* 47, 205–220. <https://doi.org/10.29090/psa.2020.03.019.0121>
- Musiam, S., Alfiian, R., 2017. Validasi Metode Spektrofotometri UV pada Analisis Penetapan Kadar Asam Mefenamat dalam Sediaan Tablet Generik. *J. Ilm. Ibnu Sina* 2, 31–43.
- Nisa, C., Saputra, P., Setiawati, E., 2021. PENGEMBANGAN DAN VALIDASI METODE UJI CADMIUM (Cd) PADA AIR PERMUKAAN SECARA SPEKTROMETRI SERAPAN ATOM NYALA. *Pertem. dan Present. Ilm. Stand.* 2020, 249–258. <https://doi.org/10.31153/ppis.2020.84>
- Nugroho, S.A., Kuncahyo, I., Marlina, D., 2023. Screening of Piroxicam Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (Snedds) Using Fractional Factorial Design. *J. Kim. Ris.* 8, 69–80. <https://doi.org/10.20473/jkr.v8i1.43803>
- Ramadhan, S.A., Musfiroh, I., 2021. Review Artikel: Verifikasi Metode Analisis Obat. *Farmaka* 19, 87–92.
- Riyanto, P.D., 2014. Validasi & Verifikasi Metode Uji Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi 1–154.
- Sokkula, S.R., Gande, S., 2020. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research A Comprehensive Review on Self-Nano Emulsifying Drug Delivery Systems : Advancements and Applications Introduction to Drug Solubility Self-Emulsifying Drug Delivery 12, 576–583. <https://doi.org/10.25004/IJPSDR.2020.120500>
- Sriamornsak, P., Limmatvapirat, S., Piriyaprasarth, S., Mansukmanee, P., Huang, Z., 2015. A new self-emulsifying formulation of mefenamic acid with enhanced drug dissolution. *Asian J. Pharm. Sci.* 10, 121–127. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2014.10.003>