

BAB III

TINJAUAN PUSTAKA

3.1 Tinjauan Pustaka

Penelitian yang dilakukan oleh Puji Lestari Tahun 2017 yaitu merupakan metode validasi penetapan kadar nystatin dalam sediaan salep menggunakan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Detektor yang digunakan dalam penelitian tersebut adalah detector UV-Vis dan fase diamnya C_{18} serta fase geraknya merupakan campuran dari methanol : air (75:25 v/v) pada panjang gelombang 303 nm. Uji validasi dilakukan berdasarkan beberapa parameter yaitu akurasi, presisi, selektifitas, linieritas dan sensitifitas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji validasi yang dilakukan memenuhi syarat antara lain nilai presisi adalah %RSD 0,0093%; akurasi 100,060% - 100,962%; selektifitas yang baik; nilai korelasi pada uji linieritasnya adalah 0,998 dengan LOD sebesar 0,608 $\mu\text{g/mL}$ dan LOQ sebesar 2,027 $\mu\text{g/mL}$. kadar rata – rata Nystatin dalam salep adalah 100,16% yang berarti dari hasil tersebut memenuhi persyaratan yang ditetapkan oleh United States Pharmacopeia.

Penelitian yang dilakukan oleh Cione dkk pada Tahun 2010 tentang validasi metode pada Nystatin salep untuk stabilitasnya menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Detector yang digunakan adalah detector UV-Vis dengan fase diamnya C_{18} dan fase geraknya campuran larutan methanol:air (75:25) dengan laju alir 1 mL/min^{-1} . Nilai %RSD yang diperoleh 0,24% untuk 6 kali pengulangan dan diperoleh nilai *recovery* sebesar 98,24% - 100,74% yang dapat

diartikan bahwa metode tersebut dapat diterapkan pada pengujian kadar Nystatin dalam bentuk sediaan salep sesuai dengan persyaratan dari United States Pharmacopeia.

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, maka dikembangkan metode analisis Nystatin pada sediaan tablet salut gula dengan kadar 500.000 IU menggunakan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Pengembangan metode dilakukan dengan mengoptimasi panjang gelombang maksimal dan fase geraknya. Optimasi fase gerak berupa merubah jenis larutan, komposisi, pH larutan, dan laju alirnya. Fase diam yang digunakan tetap sama yaitu C₁₈, fase gerak dibuat dalam pH asam yaitu 3,85 dan detector yang digunakan adalah detektor UV-Vis. Diharapkan dengan adanya optimasi tersebut dapat diperoleh hasil yang baik dan dapat diterapkan pada sediaan tablet salut gula.

3.1.1 Nystatin

Nistatin merupakan antibiotik yang digunakan sebagai anti jamur, diisolasi dari *Streptomyces nourse* dan merupakan antibiotik group poliene. Mekanisme kerja golongan poliene yaitu berikatan dengan ergosterol secara irreversibel. Ergosterol merupakan komponen yang sangat penting dari membran sel jamur. Golongan poliene ini tidak efektif terhadap dermatofit dan penggunaannya secara klinis juga terbatas yaitu untuk pengobatan infeksi yang disebabkan *Candida albicans* dan *Candida* spesies yang lain. Untuk pengobatan candida spesies, nistatin dapat digunakan secara topikal pada kulit atau membran mukosa (rongga mulut, vagina)

dan dapat juga diberikan secara oral untuk pengobatan kandidosis gastrointestinal. Informasi spesialit obat pada tahun 2012 menyatakan nystatin merupakan obat antijamur yang mempunyai aktifitas sebagai fungistatik atau fungisidal pada berbagai jamur dan yeast yang patogen dan non patogen. Nystatin aktif terhadap candida albicans, C. krusei , C. parapsilosis, C. pseudotropicalis, C. guiliermondii, dan C.tropicalis.

Informasi spesialit obat pada tahun 2012 menyatakan sediaan nystatin dapat menjadi rusak oleh panas, cahaya, kelembaban atau udara. Paparan tablet terhadap suhu lebih dari 40°C dan penyimpana suspensi oral pada suhu dingin harus di hindari. Serbuk nystatin harus di simpan dalam wadah tertutup rapat, kedap cahaya dan disimpan pada suhu 2 – 8°C. nystatin dapat di berikan dengan berbagai cara:

1. Nystatin digunakan secara topical pada kulit sebagai krim, salep, powder dan diaplikasikan secara topical didalam mulut sebagai suspense oral.
2. Diberikam secara intra vagina sebagai tablet vagina.
3. Nystatin dibetrika secara oral sebagai tablet salut film
4. Untuk pengobatan infeksi candida pada kaki, pauder ditaburkan pada kaki dan didalam sepatu dan kaos kaki

3.1.2 HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)

Metode analisa yang sekarang ini banyak digunakan adalah metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Metode tersebut mampu memberikan data baik secara kualitatif maupun kuantitatif dengan tepat dan teliti dibandingkan

metode analisa yang lain. Meskipun demikian kelemahan dari metode ini adalah biaya yang diperlukan relatif lebih mahal.

Pada instrument *High Performance Liquid Chromatography* terdapat berbagai macam detector. Pemilihan suatu detector disesuaikan dengan sifat kimia dari sampel, kemungkinan gangguan yang terjadi, batas deteksi, ketersediaan serta biaya. Adapun macam – macam detector diantaranya (Prathap dkk, 2013):

- a. Detector UV-Vis
- b. Detector fluoresens
- c. Detector indeksbias
- d. Detector elektrokimia

Akhir akhir ini, untuk pemurnian senyawa organik sekala besar, teknik HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) lebih sering digunakan. Beberapa kelebihan yang dimiliki HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) sehingga menjadikannya sebagai pilihan yang tepat dalam dunia penentuan atau pemisahan ion ataupun logam diantaranya (Ardianingsih, 2009):

- a. Kecepatan dalam analisis suatu sampel menjadi aspek yang sangat penting dalam hal analisis ion yaitu untuk mengurangi biaya, bisa menghasilkan data yang akurat dan cepat dan bisa mengurangi limbah yang dihasilkan dari penggunaan eluen
- b. Sensitivitasnya tinggi. Perkembangan teknologi mikro prosessor yang dikombinasi dengan efisiensi kolom pemisah, mulai ukuran diameter

dalam millimeter sampai skala mikro membuat pendeteksian ion dalam sampel menjadi lebih baik meskipun jumlah sampel yang diinjeksikan kedalam kolom pemisah sangat sedikit

- c. Selektivitasnya tinggi sehingga dapat menganalisis senyawa organik maupun senyawa anorganik
- d. Teknik pendeteksiannya secara serempak untuk memperkecil jumlah limbah yang dihasilkan, memperpendek waktu analisis serta memaksimalkan hasil yang diinginkan
- e. Kolom pemisahannya stabil

Keterbatasan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) adalah untuk identifikasi senyawa, kecuali jika HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) dihubungkan dengan spektrofotometer massa (MS). Keterbatasan lainnya adalah jika sampelnya sangat kompleks, maka resolusi yang baik sulit diperoleh. Instrumental HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) pada dasarnya terdiri atas delapan komponen pokok yaitu: wadah fase gerak, sistem penghantaran fase gerak, alat untuk memasukan sampel, kolom, detektor, wadah penampung buangan fase gerak, tabung penghubung dan suatu komputer atau integrator atau perekam (Gandjar dan Rohman, 2007).

Analisis dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) , fasa gerak yang digunakan harus bebas dari gas, sehingga perlu dilakukan proses penghilangan gas (*degassing*) terlebih dahulu sebelum proses pemisahan.

Penghilangan gas ini diperlukan untuk menghindari *noise* pada detektor terutama fasa organik berair. Proses penghilangan gas ini diperlukan juga untuk menghindari gelembung udara jika pelarut yang berbeda dicampurkan. *Degassing* dapat dilakukan dengan beberapa cara seperti pemukiman diatas fasa gerak, pemanasan sambil diaduk, ultrasonic danlainnya (Poole, 1994).

3.2 Hipotesis Penelitian

1. Validasi penetapan kadar Nystatin dengan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) menggunakan fase diam yang berupa column C₁₈ dan fase geraknya campuran dari larutan Acetonitril : Larutan Buffer dengan perbandingan (33,4 : 66,6)
2. Validasi penetapan kadar Nystatin dengan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) memenuhi persyaratan system suitability, selektivitas, linieritas, presisi, akurasi, limit deteksi dan stabilitas
3. Validasi metode penetapan kadar Nystatin dengan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) dapat diaplikasikan pada tablet Nystatin salut gula 500.000 IU