

Penetapan kadar Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

Fase gerak Buat campuran *natrium asetat* 0,01 M - *asetonitril P-tetrahidrofuran P* (191:5:4). Atur pH hingga 4,5 dengan penambahan *asam asetat glasial P*, saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

Larutan teofilin Timbang saksama sejumlah teofilin, larutkan dalam air, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan air hingga kadar lebih kurang 0,02 mg per mL.

Larutan baku Timbang saksama lebih kurang 5 mg *Kofein BPFI*, masukkan ke dalam labu tentukur 25-mL. Tambahkan 5 mL *Larutan teofilin*, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda.

Larutan uji Ukur saksama sejumlah volume injeksi setara dengan lebih kurang 50 mg kofein, masukkan ke dalam labu tentukur 250-mL. Encerkan dengan air sampai tanda, saring melalui penyaring membran poliviniliden difluorida atau membran yang setara dengan porositas 0,45 µm.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 275 nm dan kolom 4,6 mm x 15 cm berisi bahan pengisi *L1* dengan ukuran partikel 5 µm. Laju alir lebih kurang 1 mL per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan baku*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: waktu retensi untuk teofilin dan kofein berturut-turut lebih kurang 0,7 dan 1,0; resolusi, *R*, antara teofilin dan kofein tidak kurang dari 6,0; faktor ikutan ditentukan dari puncak teofilin dan kofein tidak lebih dari 2,0; simpangan baku relatif pada penyuntikan ulang ditentukan dari puncak kofein tidak lebih dari 2,0%.

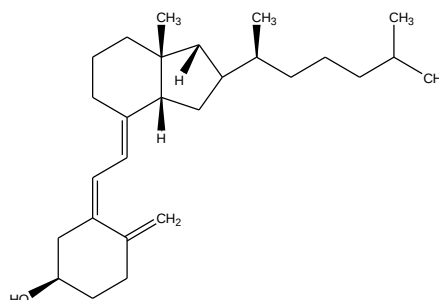
Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 10 µL) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur respons puncak kofein. Hitung jumlah dalam mg kofein sitrat, $C_{14}H_{18}N_4O_9$, dalam volume injeksi yang digunakan dengan rumus:

$$250C \left(\frac{386,31}{194,19} \right) \left(\frac{r_i}{r_s} \right)$$

C adalah kadar *Kofein BPFI* dalam mg per mL *Larutan baku*; 386,31 dan 194,19 berturut-turut adalah bobot molekul kofein sitrat dan kofein; r_i dan r_s berturut-turut adalah respons puncak dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah dosis tunggal, dari kaca Tipe I, tertutup rapat. Simpan pada suhu antara 15° dan 30°.

KOLEKALSIFEROL Cholecalciferol



(3β,5Z,7E)-kolekalsiferol [67-97-0]
 $C_{27}H_{44}O$

BM 384,64

Kolekalsiferol mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0% $C_{27}H_{44}O$.

Pemerian Hablur putih; tidak berbau. Dipengaruhi oleh udara dan cahaya. Melebur pada suhu lebih kurang 85°.

Kelarutan Tidak larut dalam air; larut dalam etanol, dalam kloroform dan dalam minyak lemak.

Baku pembanding *Kolekalsiferol BPFI*; simpan di tempat dingin, terlindung cahaya; biarkan mencapai suhu ruang sebelum ampul dibuka. Gunakan secukupnya, buang sisa yang tidak digunakan. *Vitamin D untuk kesesuaian sistem pada Penetapan kadar BPFI*; tidak boleh dikeringkan sebelum digunakan. Biarkan mencapai suhu ruang sebelum ampul dibuka. Pindahkan isi yang tidak diperlukan dari ampul ke dalam wadah yang tertutup rapat, simpan di bawah *nitrogen P* di tempat sejuk dan gelap.

Identifikasi

A. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan maksimum hanya pada bilangan gelombang yang sama seperti pada *Kolekalsiferol BPFI* pada rentang antara 2 µm sampai 12 µm.

B. Spektrum serapan ultraviolet larutan 10 µg per mL dalam *etanol P* menunjukkan maksimum dan minimum hanya pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Kolekalsiferol BPFI*; serapan masing-masing pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 263 nm, berbeda tidak lebih dari 3,0%.

C. Larutkan 0,5 mg zat dalam *kloroform P*, tambahkan 0,3 mL *asetat anhidrida P* dan 0,1 mL *asam sulfat P*, kocok kuat: terjadi warna merah terang dan cepat berubah menjadi hijau melalui violet dan biru.

D. Lakukan *Kromatografi lapis tipis* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

Fase gerak Campuran *sikloheksana P-dietil eter P* (50:50).

Penampak bercak Buat larutan *asetil klorida P* (1 dalam 50) dalam *antimon triklorida LP*.

Larutan baku Larutkan *Kolekalsiferol BPFI* dalam larutan *squalen* (1 dalam 100) dalam *kloroform P* yang dibuat segar dan tanpa pemanasan hingga kadar lebih kurang 50 mg per mL.

Larutan uji Larutkan zat dalam larutan *squalen* (1 dalam 100) dalam *kloroform P* yang dibuat segar dan tanpa pemanasan hingga kadar lebih kurang 50 mg per mL.

Prosedur Totolkan secara terpisah masing-masing 10 µL *Larutan baku* dan *Larutan uji* pada jarak 2,5 cm dari tepi bawah lempeng kromatografi *silika gel P* setebal 0,25 mm. Lakukan proses selanjutnya di tempat gelap. Masukkan lempeng ke dalam bejana yang telah dijenuhkan dengan *Fase gerak* dan biarkan merambat hingga 15 cm dari titik penotolan. Angkat lempeng, tandai batas rambat, biarkan kering di udara dan semprot lempeng dengan *Penampak bercak*: harga R_f bercak berwarna jingga kekuningan (*kolekalsiferol*) dari *Larutan uji* sama dengan harga R_f bercak *Larutan baku* dan jika terdapat bercak violet di bawah bercak *kolekalsiferol* adalah 7-dehidrokolesterol.

Rotasi jenis <1081> Antara +105° dan +112°; lakukan penetapan menggunakan larutan yang mengandung 5 mg per mL dalam *etanol P*. Buat larutan segar dengan menggunakan *kolekalsiferol* dari wadah yang dibuka tidak lebih dari 30 menit dan tetapkan rotasi dalam waktu 30 menit setelah pembuatan larutan.

Penetapan kadar Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>.

Heksan dehidrat Buat kolom kromatografi dengan menggunakan tabung kromatografi berdiameter 8 cm, panjang 60 cm, dengan 500 g *tanah silika untuk kromatografi P* ukuran 50-250 µm yang telah diaktifkan dengan pemanasan pada suhu 150° selama 4 jam. Lakukan dengan cara *Kromatografi kolom adsorpsi* seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Alirkan 500 mL *heksan P* melalui kolom, kumpulkan eluat dalam labu bersumbat kaca.

Fase gerak Buat larutan *n-amil alkohol P* dalam *Heksana dehidrat* (3 dalam 1000). Perbandingan komponen dan laju alir dapat bervariasi untuk memenuhi persyaratan kesesuaian sistem.

Larutan baku [Catatan Gunakan peralatan kaca aktinik rendah dan buat larutan segar setiap hari]. Timbang saksama lebih kurang 30 mg *Kolekalsiferol BPFI*, masukkan ke dalam labu tentukur 50-mL, larutkan dalam *toluen P* tanpa pemanasan, tambahkan *toluen P* sampai tanda. Pipet 10 mL larutan, masukkan ke dalam labu tentukur 50-mL, encerkan dengan *Fase gerak* sampai tanda. Kadar larutan lebih kurang 120 µg per mL.

Larutan uji [Catatan Gunakan peralatan kaca aktinik rendah dan buat larutan segar setiap hari]. Timbang saksama lebih kurang 30 mg zat, masukkan

ke dalam labu tentukur 50-mL dan lakukan seperti tertera pada *Larutan baku*, mulai dengan “Larutkan dalam *toluen P* tanpa pemanasan”. Kadar larutan lebih kurang 120 µg per mL.

Larutan kesesuaian sistem Timbang lebih kurang 250 mg *Vitamin D* untuk kesesuaian sistem pada *Penetapan kadar BPFI*, larutkan dalam 10 mL campuran *toluena P-Fase gerak* (1:1). Refluks pada suhu 90° selama 45 menit dan dinginkan; larutan ini mengandung *kolekalsiferol*, *pre-kolekalsiferol* dan *trans-kolekalsiferol*.

Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada *Kromatografi* <931>. Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 254 nm dan kolom 4,6 mm x 25 cm berisi bahan pengisi *L3*. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem* lima kali penyuntikan, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara puncak *trans-kolekalsiferol* dan *pre-kolekalsiferol* tidak kurang dari 1,0 dan simpangan baku relatif dari puncak *kolekalsiferol* tidak lebih dari 2,0%. Waktu retensi relatif *pre-kolekalsiferol*, *trans-kolekalsiferol* dan *kolekalsiferol* berturut-turut lebih kurang 0,4; 0,5 dan 1,0.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (5 - 10 µL) *Larutan baku* dan *Larutan uji*, ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur respons puncak utama. Hitung jumlah dalam mg *kolekalsiferol*, $C_{27}H_{44}O$, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$0,25C \left(\frac{r_U}{r_S} \right)$$

C adalah kadar *Kolekalsiferol BPFI* dalam µg per mL *Larutan baku*; r_U dan r_S berturut-turut adalah respons puncak *kolekalsiferol* dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

Wadah dan penyimpanan Simpan dalam wadah tertutup rapat di bawah nitrogen, di tempat sejuk dan terlindung cahaya.

RESIN KOLESTIRAMIN Cholestyramine resin

Kolestiramin [11041-12-6]

Resin *Kolestiramin* adalah suatu resin penukar anion basa kuat dalam bentuk klorida, mengandung *stirenavinilbenzena* kopolimer dengan gugus fungsional amonium kuarterner. Tiap gram penukar anion tidak kurang dari 1,8 gram dan tidak lebih dari 2,2 gram natrium glikokolat, dihitung terhadap zat kering.