

VALIDASI PENENTUAN Sn(II) DI DALAM KIT RADIOFARMAKA

A. Mutalib, Martalena Ramli, Herlina, Endang Sarmini,
Suharmadi, dan Canti Besari*

ABSTRAK

VALIDASI PENENTUAN Sn(II) DI DALAM KIT RADIOFARMAKA. Suatu kegiatan validasi penentuan Sn^{2+} dengan titrasi iodometri tidak langsung dilaporkan. Metoda analisis sendiri didasarkan atas reaksi oksidasi Sn^{2+} dengan menggunakan iodium berlebih dalam jumlah diketahui dan kelebihan iodium yang tidak bereaksi dititer dengan larutan standar tiosulfat. Parameter analitik yang dipelajari dalam kegiatan validasi adalah presisi, akurasi, selektivitas, rentang analisis (range) dan linieritas. Presisi metoda analisis cukup baik, yang ditunjukkan dengan koefisien variasi yang berkisar antara 1,0% - 6,9%, untuk 10 kali pengulangan kecuali untuk satu analisis yang memiliki koefisien variasi sekitar 10,6%. Akurasi metoda memperlihatkan nilai cukup baik untuk kandungan Sn^{2+} yang berkisar antara 463 μg sampai 2318 μg . Selektifitas atau kespesifikan (specificity) dengan adanya "placebo ingredient" bahan baku kit MDP dan DTPA menunjukkan hasil analisis Sn^{2+} yang tidak berbeda nyata antara cuplikan Sn^{2+} dalam keadaan murni dengan cuplikan Sn^{2+} yang mengandung "placebo ingredient". Metoda analisis mempunyai rentang analisis dan linier di daerah jangkauan konsentrasi antara 463 μg sampai 2318 μg . Korelasi antara kadar Sn^{2+} teoritis dengan kadar Sn^{2+} hasil pengukuran ternyata sangat baik dengan nilai $R = 0,9991$. Hasil validasi ini menunjukkan bahwa metoda analisis cukup cepat, sederhana dan cukup teliti untuk kegiatan rutin penentuan kuantitatif Sn^{2+} sebagai komponen kit radiofarmaka.

ABSTRACT

ASSAY VALIDATION FOR QUANTITATION OF Sn^{2+} IN RADIOPHARMACEUTICAL KITS. An assay validation for quantitation of Sn^{2+} in radiopharmaceutical kits based on indirect iodometric titration is described. The method is based on the oxidation of Sn^{2+} using a known excess of iodine and the excess unreacted iodine titrated with thiosulphate. Typical analytical parameters considered in this assay validation are precision, accuracy, selectivity or specificity, range, and linearity. The precision of the analytical method is quite good represented by coefficient of variance in the range of 1.0% to 6.9%, for 10 runs of analysis except one analysis shows the coefficient of 10.2%. The method has an accuracy of 95.6% - 99% as percent recoveries at theoretical Sn^{2+} amounts of 463 μg to 2318 μg . The selectivity or specificity in the presence of placebo ingredients, such as MDP and DTPA, shows that there is no significant difference between the analytical mean of placebo samples and that of non-placebo samples. The theoretical and experimental Sn^{2+} amounts show a linear correlation in the stannous range studied with an excellent correlation coefficient ($R = 0.9991$). This validation studies indicate that the analytical method is accurate enough for routine quantitative analysis of Sn^{2+} in radiopharmaceutical kits.

* Akademi Kimia Analisis, Bogor

PENDAHULUAN

Hampir setiap preparasi kit radiofarmaka yang dalam penggunaan lebih lanjut ditandai dengan radionuklida ^{99m}Tc maupun ^{186}Re atau ^{188}Re akan melibatkan penggunaan Sn^{2+} sebagai reduktor. Proses reduksi umumnya merupakan reduksi Tc(VII) atau Re(VII) masing-masing sebagai perteknetat, $^{99m}\text{TcO}_4^-$, atau perenat, $^{186/188}\text{ReO}_4^-$ menjadi teknesium (V) atau renium(V). Reduksi dengan bilangan oksidasi lebih rendah (IV, III, II, I, dan -I) umumnya bisa melibatkan kombinasi Sn^{2+} dengan reduktor lain atau reduktor-reduktor kuat lain dalam keadaan tersendiri. Reduktor-reduktor, selain Sn^{2+} , diantaranya adalah asam halida pekat (HX), Ti^{2+} , Cu^+ , Fe^{2+} , Fe(II)-askorbat , elektroda Sn^0 dan Zn^0 , SCN^- , BH_4^- , $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$, $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, H_3PO_2 , H_2NNH_2 , H_2NOH , asam formamidin sulfinat, dan dithiothreitol [1].

Karena konsentrasi larutan $^{99m}\text{TcO}_4^-$ atau $^{186/188}\text{ReO}_4^-$ sebagai *starting material* yang digunakan dalam penandaan sangat kecil, sekitar 10^{-6} - 10^{-8} M, maka pemakaian Sn^{2+} dalam kit akan berkisar dalam orde beberapa mikrogram sampai beberapa miligram. Pemakaian Sn^{2+} berlebih perlu dihindari, karena selain Sn dalam jumlah cukup tinggi bersifat toksik juga sangat mengganggu dalam proses penandaan. Hal yang terakhir ini telah ditunjukkan oleh Srivasta dkk. [2], Oster dkk. [3] dan Elder dkk. [4] yang menyatakan bahwa kompleks Sn kemungkinan akan mempengaruhi kimia maupun nasib metabolisme senyawa bertanda ^{99m}Tc atau $^{186/188}\text{Re}$. Karena itu sangat penting untuk mengetahui jumlah Sn^{2+} di dalam kit radiofarmaka sebagai bagian dari kegiatan kendali kualitas mulai dari penyiapan bahan baku, produksi, sampai penyimpanan produk jadi kit radiofarmaka.

Berbagai metode penentuan Sn^{2+} di dalam kit radiofarmaka telah dilaporkan dalam berbagai pustaka [5-9]. Kebanyakan metode yang dianut adalah metode iodometri-langsung dengan titik akhir yang ditentukan baik berdasarkan indikator kanji maupun dengan menggunakan elektroda redoks potensiometri. Hambatan utama metode ini adalah larutan pentiter, larutan yang dititer, dan atmosfer diatas larutan harus bebas oksigen, karena Sn^{2+} sangat peka terhadap oksidasi udara. Disamping itu Scott [10] melaporkan pula bahwa titrasi iodometri-langsung secara potensiometri untuk penentuan Sn^{2+} tidak cocok bila digunakan terhadap cuplikan yang mengandung protein. Dalam upaya mengatasi kesulitan-kesulitan tersebut beberapa peneliti telah mengusulkan metode iodometri tidak langsung [9-11]. Pada prinsipnya metode ini didasarkan atas reaksi oksidasi Sn^{2+} oleh oksidator berlebih dalam jumlah diketahui dan kelebihanya kemudian dititrasi dengan larutan tiosulfat atau bikromat.

Meskipun metode penentuan Sn^{2+} di dalam kit radiofarmaka secara iodometri tidak langsung telah memberikan hasil cukup memuaskan [9], parameter kualitas metode atau karakteristik kinerja metode yang berkaitan dengan selektivitas, akurasi, presisi, batas deteksi metode perlu dikaji secara menyeluruh sebagai suatu kegiatan validasi.

Kegiatan validasi ini merupakan bagian dari kegiatan jaminan kualitas suatu laboratorium yang berwenang memberikan rekomendasi lolos tidaknya suatu bahan baku, produk setengah jadi, dan produk akhir yang diperiksa sesuai dengan persyaratan yang ditetapkan. Validasi metode analitik didefinisikan sebagai suatu proses kegiatan yang dilaksanakan berdasarkan telaah laboratorium dengan tujuan untuk membuktikan bahwa karakteristik kinerja atau parameter analitik suatu metoda analisis sesuai dengan persyaratan-persyaratan aplikasi analitik yang ditetapkan [12]. Validasi metoda analisis dapat dikatakan pula sebagai tahap akhir dari suatu pengembangan metoda analisis [13-15].

Dalam makalah ini dilaporkan hasil validasi metoda iodometri tidak langsung untuk penentuan Sn^{2+} sebagai bahan baku maupun sebagai komponen produk akhir kit radiofarmaka.

BAHAN, PERALATAN DAN TATA KERJA

Kalium iodate (KIO_3), natrium tiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), kalium bikromat ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), timah (II) klorida hidrat ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), kalium iodida (KI), dan asam klorida (HCl) yang digunakan buatan Merck dan mempunyai "grade" p.a. Semua air yang digunakan sebagai pelarut diperoleh dari pemurnian kembali air bebas mineral melalui Milipore dan selanjutnya dijenuhkan dengan gas nitrogen selama 3/4 jam.

Larutan timah(II) klorida disiapkan dengan cara menimbang secara teliti kristal timah (II) klorida hidrat ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) yang masih mengkilap dan bening, kemudian dilarutkan dengan 10 mL HCl 0.3 N di dalam labu ukur 10 mL.

Larutan pentiter natrium tiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) distandarisasi tiap minggu dengan menggunakan larutan $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. Dengan menggunakan pipet seukuran, 10 mL larutan $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0,05 N dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 mL, kemudian ditambahkan 2 mL larutan KI 10% dan 4 mL larutan HCl 5N. Larutan selanjutnya diencerkan dengan 60 mL air, kemudian dititrasi dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.02 N sampai terjadi perubahan warna dari hijau menjadi coklat.

Standarisasi tiap hari larutan pentiter tiosulfat yang bertindak pula sebagai titrasi blanko dilakukan dengan menggunakan larutan KIO_3 0,01 N.

Sebanyak 10 mL larutan KIO_3 0,01 N yang dipipet dengan pipet seukuran dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL, kemudian ditambahkan 1 mL larutan HCl 1 N dan 1 mL larutan KI 10%. Selanjutnya larutan diencerkan dengan 60 mL air dan dititrasi dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.02 N.

Penentuan kandungan Sn^{2+} dilakukan dengan cara menambahkan larutan KIO_3 0,01 N dalam jumlah berlebih dengan volum diketahui dengan pasti kedalam erlenmeyer 250 mL yang telah berisi cuplikan Sn^{2+} yang akan ditentukan. Kedalam erlenmeyer yang sama tambahkan pula 1 mL larutan HCl 1 N dan 1 mL larutan KI 10%, kemudian larutan dititrasi dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,02 N sampai terjadi perubahan warna kuning menjadi tidak berwarna.

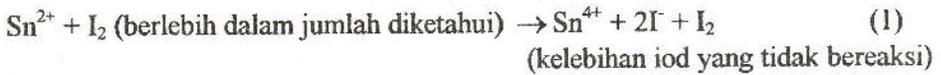
Penentuan kandungan Sn^{2+} dilakukan pula terhadap cuplikan Sn^{2+} yang mengandung MDP dan DTPA dengan tata kerja yang sama seperti diatas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pelaksanaan validasi metoda analisis (assay) menurut US Pharmacopea XXII [12] dapat dikelompokkan atas tiga kategori yang masing-masing memerlukan kriteria informasi analitik yang berbeda. Kategori pertama berkaitan dengan metode analisis untuk penentuan kuantitatif komponen utama obat dalam bentuk "bulk" atau zat-zat pengisi (ingredients) aktif (termasuk zat pengawet) di dalam suatu produk jadi farmaka. Informasi analitik yang diperlukan dalam validasi kategori ini adalah presisi, akurasi, selektivitas, rentang analisis (range), linieritas, dan "ruggedness". Sedangkan metode analisis kategori kedua berkenaan dengan penentuan pengotor (impurities) di dalam senyawa obat dalam bentuk "bulk" atau penentuan senyawa-senyawa hasil penguraian yang terdapat di dalam produk jadi farmaka. Kategori kedua ini selanjutnya dikelompokkan lagi atas penentuan kuantitatif (quantitative assay) dan uji batas (limit test). Kriteria informasi analitik dari penentuan kuantitatif adalah presisi, akurasi, batas kuantitasi (limit of quantitation), selektivitas, rentang analisis, linieritas, dan "ruggedness". Sedangkan kriteria informasi analitik untuk uji batas diantaranya adalah batas deteksi, selektivitas, dan "ruggedness". Akurasi dan rentang analisis dapat dilaksanakan sesuai dengan kebutuhan. Kategori metoda analitik yang ketiga berkenaan dengan metoda analitik untuk penentuan karakteristik kinerja, misalnya disolusi, pelepasan obat (drug release), dst. Informasi analitik yang diperlukan untuk validasi diantaranya adalah presisi dan "ruggedness". Informasi analitik yang lain dapat dilakukan sesuai dengan kebutuhan.

Karena Sn^{2+} di dalam kit radiofarmaka merupakan bahan aktif yang berperan untuk mereduksi $^{99m}\text{TcO}_4^-$ sehingga memungkinkan terjadinya penandaan suatu ligan senyawa organik dengan teknesium valensi rendah, maka metoda analitik untuk penentuan Sn^{2+} ini dapat dikelompokkan sebagai metoda analitik kategori pertama. Karena itu informasi analitik yang diperlukan untuk validasi penentuan Sn^{2+} tersebut akan meliputi presisi, akurasi, selektivitas, rentang analisis (range), linieritas, dan "ruggedness".

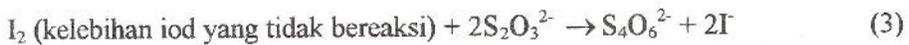
Seperti telah dijelaskan oleh Muddukrishna dkk.[9] bahwa metodologi penentuan Sn^{2+} dengan cara titrasi iodometri tidak langsung didasarkan atas reaksi oksidasi sesaat antara Sn^{2+} dengan iod berlebih melalui reaksi berikut:



Iod dalam reaksi diatas dihasilkan secara *in situ* berdasarkan reaksi berikut:



Kelebihan iod yang tidak bereaksi kemudian ditentukan dengan cara mentitrasinya dengan $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ berdasarkan reaksi kimia berikut:



Dengan adanya reaksi oksidasi sesaat terhadap Sn^{2+} di dalam vial menjadi Sn^{4+} merupakan keunggulan dari metoda analisis, karena campuran reaksi yang dihasilkan selanjutnya tidak lagi peka terhadap pengaruh oksidasi udara sehingga Sn^{2+} dalam jumlah cukup rendah dapat ditentukan secara kuantitatif dan teliti (reproducible). Karenanya akurasi metoda analisis ditentukan oleh (a) hasil standarisasi larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ yang perlu dilakukan secara rutin dalam upaya mendapatkan konsentrasi yang diketahui secara akurat; (b) volum larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ yang diperlukan untuk volum tertentu larutan KIO_3 0,01 N yang digunakan dengan ada atau tidak adanya Sn^{2+} ; dan © hilangnya iod dari sistem reaksi selama analisis dilakukan.

Data pengamatan presisi dan akurasi metoda analisis ditunjukkan pada Tabel 1. Data akurasi yang diamati didasarkan atas nilai perolehan kembali (percent recovery), sedangkan presisi didasarkan atas nilai simpangan baku atau koefisien variasi. Hasil pengamatan terhadap akurasi memperlihatkan bahwa nilai perolehan kembali untuk kandungan $\text{Sn}^{2+} > 446 \mu\text{g}$ adalah sekitar 93,7 - 97,5%. Hal ini menunjukkan bahwa selama preparasi larutan Sn^{2+} di dalam larutan telah terjadi proses oksidasi udara terhadap Sn^{2+} sekitar 2,5 - 6,3%.

Hasil penelitian Muddukrishna dkk.[9] memperkuat dugaan ini dengan menunjukkan bahwa hampir 25% Sn^{2+} akan teroksidasi oleh udara bila larutan Sn^{2+} dipaparkan terhadap udara selama 5 menit, 60% akan teroksidasi bila paparannya terjadi selama 10 menit, dan sekitar 85% teroksidasi dalam paparan udara selama 20 menit. Disamping itu Muddukrishna dkk.[9] menyatakan pula bahwa kestabilan larutan stock Sn^{2+} 0,5 M, yang disiapkan dengan menggunakan pelarut HCl 1,0 N di dalam labu volumetri 10 mL yang ditutup rapat akan berkisar tidak lebih dari 2 jam.

Untuk mengetahui apakah ada atau tidak perbedaan nyata (significant) antara rerata hasil analisis Sn^{2+} dengan kandungan Sn^{2+} sesungguhnya, maka dilakukan uji t (t test) dengan menggunakan persamaan berikut:

$$t = \frac{(\bar{y} - \mu)\sqrt{N}}{s} \quad (4)$$

dimana \bar{y} , μ , N , dan s masing-masing adalah nilai rerata hasil analisis, nilai sebenarnya, jumlah perulangan analisis (replication), dan simpangan baku (standard deviation). Nilai t hasil perhitungan dari persamaan (4) kemudian dibandingkan dengan nilai t dari tabel pada tingkat kepercayaan $P=95\%$ dan $P=99\%$ untuk "two-tailed test". Hasil analisis No.1 sampai dengan No.3 memperlihatkan nilai t_{hitung} lebih kecil dari nilai t_{tabel} untuk kedua tingkat kepercayaan $P=95\%$ dan $P=99\%$ (lihat Tabel 2). Hal ini menyatakan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata antara rerata hasil analisis Sn^{2+} dengan nilai spesifikasi atau nilai sebenarnya pada tingkat kebolehjadian atau kepercayaan $P=95\%$ dan $P=99\%$. Dengan kata lain dapat dikatakan pula bahwa tidak ada kesalahan sistematis (systematic error) atau bias di dalam metoda analisis untuk kandungan Sn^{2+} antara 463 μg dan 1854 μg . Sedangkan untuk analisis dengan kandungan Sn^{2+} sekitar 2318 μg (analisis No. 4, Tabel 2) memperlihatkan ada kesalahan sistematis pada tingkat kepercayaan $P=95\%$, meskipun tidak ada perbedaan yang nyata antara nilai rerata hasil analisis dengan nilai sebenarnya pada tingkat kepercayaan $P=99\%$. Karenanya untuk analisis dengan kandungan Sn^{2+} sekitar 2318 μg akan memiliki kepercayaan 95% bahwa hasil analisis menunjukkan hasil yang benar. Kesalahan sistematis metoda analisis ditunjukkan dengan nyata baik pada tingkat kepercayaan $P=95\%$ maupun $P=99\%$ apabila kandungan Sn^{2+} sekitar 4636 μg (analisis No.5, Tabel 2). Karena itu ada perbedaan yang nyata antara nilai rerata analisis dengan nilai yang sebenarnya.

Koefisien variasi sebagai ukuran presisi metoda analisis memperlihatkan kecenderungan yang bervariasi dengan semakin tinggi kandungan Sn^{2+} (lihat Tabel 1). Hal ini menunjukkan adanya kesalahan acak (random error) yang bervariasi dari individu yang melakukan analisis.

Presisi metode untuk kandungan Sn^{2+} antara 446 - 887 μg adalah sekitar antara $\pm 31 \mu\text{g}$ (6,9%) dan $\pm 94 \mu\text{g}$ (10,6%), sedangkan untuk kandungan Sn^{2+} antara 1836 - 4439 μg berkisar antara $\pm 24 \mu\text{g}$ (1,3%) dan $\pm 59 \mu\text{g}$ (2,6%). Untuk membandingkan presisi antara satu analisis dengan kandungan Sn^{2+} tertentu dengan hasil analisis dengan kandungan Sn^{2+} yang berbeda maka dilakukan uji F (F test) dengan membandingkan nilai F hitung dengan nilai F tabel. F hitung diperoleh berdasarkan persamaan berikut:

$$F = \frac{s_A^2}{s_B^2} = \frac{V_A}{V_B} \quad (5)$$

dimana $s^2 = (\text{simpangan baku})^2 = \text{varian}$.

Nilai F hitung antara analisis No.1 dan No.2 (Tabel 1) adalah 9,19, sedangkan nilai F tabel pada tingkat kepercayaan pada $P = 95\%$ dan $P = 99\%$ untuk "two-tailed test" masing-masing adalah 4,99 dan 6,99. Hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan yang nyata antara presisi analisis No.1 dan presisi analisis No.2. Sedangkan nilai F hitung antara analisis No.1 dengan No.3, No.4, dan No.5 masing-masing adalah 1,67, 3,62, dan 1,84 dan nilai F tabelnya adalah 5,60 ($P = 95\%$) dan 8,26 ($P = 99\%$) untuk analisis No.1 dan No.3; 4,99 ($P = 95\%$) dan 6,99 ($P = 99\%$) untuk analisis No.1 dengan No.4 dan No.5. Dari data nilai F ini dapat dinyatakan bahwa tidak ada perbedaan presisi yang nyata untuk analisis Sn^{2+} dengan kandungan antara 463 - 4636 μg , kecuali untuk cuplikan yang mengandung 927 μg Sn^{2+} .

Selektifitas metoda analisis atau dapat diartikan pula sebagai kespesifikan (specificity) metoda analisis didasarkan atas derajat kedekatan antara hasil analisis Sn^{2+} yang mengandung bahan pengotor, hasil degradasi atau *placebo ingredient* dengan hasil analisis Sn^{2+} murni yang tidak mengandung bahan pengotor, hasil degradasi atau *placebo ingredient*. Dalam pengamatan selektivitas ini bahan baku kit radiofarmaka MDP dan DTPA dimasukkan kedalam cuplikan yang mengandung Sn^{2+} . Tabel 3 memperlihatkan perbandingan hasil analisis antara cuplikan Sn^{2+} yang mengandung MDP atau DTPA (*placebo ingredient*) dengan cuplikan Sn^{2+} murni. Perbedaan hasil analisis diuji dengan uji t pada tingkat kepercayaan $P = 95\%$ dan $P = 99\%$ dengan membandingkan t hitung dengan t tabel. Nilai t hitung diperoleh melalui persamaan berikut:

$$t = \frac{\bar{y}_1 - \bar{y}_2}{s_p \sqrt{\left(\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2}\right)}} \quad (6)$$

\bar{y}_1 , \bar{y}_2 , N_1 , N_2 , dan s_p masing-masing adalah rerata hasil analisis pada cuplikan 1 dan 2, jumlah data atau perulangan dalam tiap-tiap cuplikan, dan simpangan baku gabungan yang dihitung dari simpangan baku masing-masing cuplikan berdasarkan persamaan berikut:

$$s_p = \sqrt{\frac{(N_1-1)s_1^2 + (N_2-1)s_2^2}{N_1 + N_2 - 2}} \quad (7)$$

Hasil uji t menunjukkan bahwa pada tingkat kepercayaan $P = 95\%$ maupun $P = 99\%$ tidak ada pengaruh adanya bahan kit MDP maupun DTPA terhadap hasil analisis Sn^{2+} dengan cara titrasi iodometri tidak langsung.

Rentang analisis (range) dari metoda diperoleh dengan mengamati hasil-hasil analisis kandungan Sn^{2+} dari kadar terendah sampai kadar tertinggi dengan memperhatikan aspek-aspek akurasi, presisi dan selektivitas. Tabel 1 menunjukkan bahwa rentang analisis metoda cukup baik untuk kandungan Sn^{2+} terendah 463 μg sampai dengan kandungan tertinggi 2318 μg . Meskipun hasil pengamatan menunjukkan presisi untuk kandungan Sn^{2+} 927 μg tidak begitu baik akibat adanya kesalahan acak, hal ini masih dapat diperbaiki dengan meningkatkan ketrampilan individu yang melakukan analisis, sehingga rentang analisis antara 463 μg dan 2318 μg bisa dianut.

Uji linieritas metoda analisis dapat dikatakan pula sebagai salah satu upaya untuk mengamati akurasi metoda analisis disamping pengamatan perolehan kembali (recovery) [14]. Uji ini dilaksanakan dengan mengamati hubungan linier antara nilai kandungan Sn^{2+} yang sebenarnya dengan nilai kandungan Sn^{2+} yang terukur (lihat Tabel 1). Kurva kandungan Sn^{2+} yang terukur terhadap kandungan Sn^{2+} yang diukur ditunjukkan pada Gambar 1. Hubungan linier dari kurva dipelajari dengan analisis regresi dan diperoleh koefisien korelasi $R = 0,9991$. Nilai $R=0,9991$ ini menunjukkan bahwa ada hubungan linier yang baik antara kandungan Sn^{2+} yang sebenarnya dengan kandungan Sn^{2+} yang terukur.

Uji "ruggedness" metoda analisis merupakan salah satu ukuran untuk presisi suatu metoda analisis. Ukuran presisi yang lain adalah kedapat-ulangan dalam kondisi yang sama atau dalam laboratorium yang sama (repeatability) dan kedapat-ulangan dalam kondisi yang berbeda atau dalam laboratorium yang berbeda (reproducibility). Presisi yang berkaitan dengan "repeatability" telah dijelaskan diatas, sedangkan presisi yang berkaitan dengan "reproducibility" tidak dipelajari dalam kegiatan validasi penentuan Sn^{2+} ini. Uji "ruggedness" lebih ditekankan terhadap identifikasi parameter-parameter operasional kritis dari metoda analisis. Parameter-parameter tersebut mencakup (a).

Faktor lingkungan yang berhubungan dengan temperatur, tekanan, kelembaban relatif (relative humidity), dst.; (b). faktor kimia yang berkaitan dengan konsentrasi pereaksi, pH, dsb. Karena beberapa faktor ini, diantaranya pengaruh udara dan konsentrasi pereaksi pentiter telah dipelajari dalam pustaka [9], maka dalam kegiatan validasi ini tidak dikemukakan.

KESIMPULAN

Dari studi validasi ini dapat disimpulkan bahwa (1) akurasi metoda analisis cukup baik untuk kandungan Sn^{2+} di daerah konsentrasi antara antara 463 μg sampai 2318 μg ; (2) presisi metoda analisis cukup tinggi yang ditunjukkan dengan koefisien variasi yang berkisar antara 1,0% - 6,9%, kecuali untuk satu nomor analisis yang memiliki koefisien variasi sekitar 10,6% yang diduga merupakan kesalahan individu; (3) selektifitas atau kespesifikan (specificity) dengan adanya "placebo ingredient" bahan baku kit MDP dan DTPA menunjukkan bahwa metoda analisis tidak terpengaruh dengan adanya komponen-komponen lain; dan (4) rentang analisis dan kelinieran berada di daerah jangkauan konsentrasi antara 463 μg sampai 2318 μg .

PUSTAKA

1. E. DEUTSCH, K. LIBSON, S. JURISSON, L.F. LINDOY, in *Progress in Inorganic Chemistry*, S.J. LIPPARD, Eds., John Wiley & Sons, New York, 1983, Vol. 30, 75.
2. S.C. SRIVASTA, G.E. MEINKEN, P. RICHARDS, P. SOM, Z.H. OSTER, H.L. ATKINS, A.B. BRILL, F.F. KNAPP JR., *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, 12 (1985), 167.
3. Z.H. OSTER, P. SOM, S.C. SRIVASTA, R.G. FAIRCHILD, G.E. MEINKEN, D.Y. TILMAN, D.F. SACKER, P. RICHARDS, H.L. ATKINS, A.B. BRILL, F.F. KNAPP JR., T.A. BUTLER, *Int. J. Nucl. Med. Biol.*, 12 (1985), 175.
4. R.C. ELDER, J. YUAN, B. HELMER, D. PIPES, K. DEUTSCH, E. DEUTSCH, *Inorg. Chem.*, 36 (1997), 3055.
5. B. GALLEZ, P. OSINSKI, J. ADLINE, P. DUMONT, *App. Radiat. Isot.*, 39 (1988), 705.
6. L.R. CHERVU, B. VALLABHAJOSYULA, J. MANI, S.B. CHUN, M.D. BLAUFOX, *Eur. J. Nucl. Med.*, 7 (1982), 291.
7. M.B. IMRAN, S.J. KURSHID, H.M.A. KARIM, *J. Radioanal. Nucl. Chem., Letters* 176 (1993), 211.

8. E.D. WILLIAM, L.K. HARDING, J.H. MCKILLOP, Nucl. Med. Comm., 10 (1989) 595.
9. S.N. MUDDUKRISHNA, A. CHEN, T.R. SYKES, A.A. NOUJAIM, Appl. Radiat. Isot., 45 (1994), 293.
10. J.R. SCOTT, Canadian Association of Radiopharmaceutical Scientists Newsletter, 25 (1990), 2.
11. R.W. COLLINS, W.H. NABERGALL, Anal. Chem., 34 (1962), 1511.
12. US. PHARMACOPEIA XXIII, United States Pharmacopeial Convention, Inc., (1994), 1711.
13. J.M. GREEN, Anal. Chem., 68 (1996), 305A.
14. G. KATEMAN, L. BUYDENS, Quality Control in Analytical Chemistry, Second Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1993, 118.
15. J.K. TAYLOR, Quality Assurance of Chemical Measurements, Lewis Publishers, Inc., Boca Raton, Fl., 1987, 193.

PUSTAKA

E. DEUTSCH, K. LIBSON & JURISSON, I.F. LINDOY, in Progress in Radiochemistry, S.I. LIPPARD, Eds, John Wiley & Sons, New York, 1983, Vol. 2, 1-10.

S.C. SRIVASTA, G.E. MEINKEN, P. RICHARDS, P. SOM, A.H. OSTER, I.F. LINDOY, A.B. BRILL, F. KNAPP JR, Int. J. Appl. Radiat. Isot., 12 (1987), 1-10.

A.H. OSTER, P. SOM, S.C. SRIVASTA, R.G. FAIRCHILD, G.E. MEINKEN, G.Y. FILMAN, D.R. SACKER, P. RICHARDS, H.I. ATKINS, A.B. BRILL, F. KNAPP JR, T.A. BUTLER, Int. J. Nucl. Med. Biol., 12 (1987), 1-10.

R.C. ELDER, J. YUAN, B. HELMER, D. PERES, K. DEUTSCH, E. DEUTSCH, Int. J. Nucl. Med. Biol., 12 (1987), 1-10.

B. GALILEI, P. OSINSKI, J. ADLINE, P. DUMONT, App. Radiat. Isot., 34 (1987), 1-10.

L.K. CHERVU, B. VALLABHAYYULA, J. MANI, S.B. THIRU, S.B. THIRU, S.B. THIRU, Int. J. Nucl. Med. Biol., 7 (1982), 1-10.

M.B. IMRAN, S.I. KURSHID, H.M.A. KARIM, I. RADIOLOGICAL NUCL. CHEM. COMM., 176 (1993), 211.

Tabel 1. Nilai perolehan kembali dan koefisien variasi analisis Sn²⁺

Nomor Analisis	Perulangan	Kandungan Sn ²⁺ , µg		%Perolehan Kembali	%Koefisien Variasi
		Hasil analisis ± SB*	Nilai sebenarnya		
1	8	446 ± 31	463	96,1	6,9
2	8	887 ± 94	927	95,6	10,6
3	7	1836 ± 24	1854	99,0	1,3
4	8	2261 ± 59	2318	97,5	2,6
5	8	4439 ± 42	4636	93,7	1,0

• SB = simpangan baku

Tabel 2. Nilai t_{hitung} dan t_{tabel} dari hasil analisis pada Tabel 1.

Nomor Analisis	Perulangan	Derajat Kebebasan	t _{hitung}	t _{tabel}	t _{tabel}
				P = 0,05	P = 0,01
1	8	7	1,55	2,36	3,50
2	8	7	1,20	2,36	3,50
3	7	6	1,98	2,45	3,71
4	8	7	2,73	2,36	3,50
5	8	7	13,26	2,36	3,50

Tabel 3. Data analisis Sn²⁺ di dalam MDP dan DTPA beserta data uji perbedaannya terhadap hasil analisis Sn²⁺ tanpa pengotor

Kandungan Placebo	Perulangan (Replikasi)	Hasil Analisis ± SB (µg)	t _{hitung}	t _{tabel}	
				P= 95%	P= 99%
Murni	6	2555 ± 61			
MDP	5	2579 ± 56	1,00	2,26	3,25
DTPA	10	2569 ± 43	0,76	2,18	3,05