

## ABSTRACT

The combination of FTIR and multivariate played an important role in the analysis of *Chloramphenicol* (CL) and *Hydrocortisone Acetate* (HID) cream formulation. Although, the *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) techniques had always been a mainstay, but it was less efficient for the analysis of this formulation and required many stages as well as less economical. The good quality assurance of a drug formulation required a rapid, valid, inexpensive and simple analysis method. In this case, FTIR spectroscopy combined by multivariate Partial Least Square was a capable method to analyse CL and HID in cream formulation. Whereas HPLC could determine the actual value of CL and HID in cream formulation. The objective of this study was to develop HPLC optimized using *Box Behnken Design* (BBD) and FTIR spectroscopy combined by multivariate *Partial Least Square* (PLS) for effective analysis of CL and HID in cream formulation.

High Performance Liquid Chromatography analysis was performed by LC20AD (Shimadzu), C-18 Waters X-Bridge column (250 x 4.6 mm id, 5 $\mu$ m), UV detector at wavelength of 261 nm. Optimal condition of HPLC of BBD results are: mobile phase of acetonitrile 47%, flow rate of 0.9 mL/min and column temperature 38°C. Sample solution were prepared in methanol then diluted with acetonitrile:water (1:1) to obtained 80 ppm of CL and 100 ppm of HID. Validation of the analytical method gives good results characterized by a resolution value  $\geq 1.5$  for specificity/selectivity test and  $R^2 > 0.999$  in the CL and HID linearity test. RSD value on intraday and interday precision tests  $\leq 1.9\%$  and recovery values in the accuracy test are in the range of 98-102%.

In this research, to get the optimum prediction models between actual values (HPLC) and calculated/predicted values (FTIR-PLS), FTIR spectra from CL and HID cream was subjected to several optimization including wavenumbers selection and derivatization. The optimum prediction model obtained with wavenumbers of 1500-1000  $\text{cm}^{-1}$  at first derivative FTIR spectra. The  $R^2$  value for calibration and internal validation for CL and HID  $> 0.9$  with relatively small RMSEC, RMSECV and PRESS values. External validation of CL and HID models produces  $R^2 > 0.98$  with RMSEP 0.6501 and 1.0041. Chloramphenicol and HID assay using HPLC were compared to FTIR spectroscopy-PLS using independent t-tests. Statistically non significant results ( $p > 0.05$ ) were obtained from two method, so FTIR spectroscopy-PLS can be used as a rapid and reliable analytical method for determination of CL and HID in cream formulation.

**Keywords:** chloramphenicol, hydrocortisone, FTIR spectroscopy, PLS, HPLC

## INTISARI

Kloramfenikol (CL) dan hidrokortison asetat (HID) dalam sediaan krim mempunyai khasiat sebagai obat anti-infeksi dan dermatitis, dan sediaan ini banyak beredar di pasaran. Penetapan kadar CL dan HID untuk kontrol kualitas dapat dilakukan secara kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT), namun teknik ini kurang praktis dibandingkan teknik spektroskopi inframerah yang cepat, non destruktif, murah, dan waktu analisis singkat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengembangkan metode KCKT dan spektroskopi FTIR, kemudian dikombinasikan dengan kalibrasi multivariat *Partial Least Square* (PLS) untuk analisis CL dan HID dalam sediaan krim.

Dalam penelitian ini metode KCKT untuk penentuan nilai aktual CL dan HID dioptimasi menggunakan *Box-Behnken Design* (BBD). Analisis KCKT menggunakan LC20AD (Shimadzu), kolom C-18 Waters X-Bridge (250 x 4,6 mm i.d, 5µm), detektor UV dengan panjang gelombang 261 nm menghasilkan kondisi optimum dengan fase gerak asetonitril 47%, laju alir 0,9 mL/menit dan suhu kolom 38°C. Larutan sampel disiapkan dalam pelarut metanol kemudian diencerkan dengan asetonitril:air (1:1) hingga diperoleh konsentrasi akhir CL 80 ppm dan HID 100 ppm. Validasi metode analisis memberikan hasil yang baik ditandai dengan uji spesifisitas/selektivitas, dan memberikan nilai resolusi  $\geq 1,5$ ; nilai  $R^2 > 0,999$  pada uji linieritas. Uji presisi baik *intraday* maupun *interday* menghasilkan nilai RSD  $\leq 1,9\%$  dan nilai perolehan kembali pada uji akurasi berada di dalam rentang 98-102%.

Spektra derivat FTIR divalidasi pada bilangan gelombang 1500-1000  $\text{cm}^{-1}$  untuk kuantifikasi CL dan HID sehingga didapatkan model optimal antara nilai aktual dari analisis KCKT dan nilai prediksi dengan spektra FTIR yang dikombinasikan dengan PLS. Nilai  $R^2$  kalibrasi dan validasi internal untuk CL dan HID  $> 0,9$  dengan nilai *root mean square error of calibration* (RMSEC), *root mean square error of cross validation* (RMSECV) dan *predicted residual error of sum squares* (PRESS) relatif kecil. Validasi eksternal model CL dan HID menghasilkan nilai  $R^2 > 0,98$  dengan nilai *root mean square error of prediction* (RMSEP) 0,6501 dan 1,0041. Kadar CL dan HID hasil analisis dengan KCKT dibandingkan dengan kadar dari analisis menggunakan spektroskopi FTIR-PLS dengan menggunakan *independent t-test*. Analisis statistik dengan *p-value*  $> 0,05$  menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara hasil kedua metode sehingga dapat disimpulkan analisis CL dan HID dalam krim dengan spektroskopi FTIR-PLS dapat menjadi pilihan metode analisis yang cepat, efisien, mudah, murah dan akurat.

**Kata kunci : kloramfenikol, hidrokortison, spektroskopi FTIR, PLS, KCKT**