



Pengaruh pH dan Kekuatan Ionik terhadap Profil Kelarutan Ofloksasin

(Effects of pH and Ionic Strength on the Solubility Profile of Ofloxacin)

BUDIPRATIWI WISUDYANINGSIH^{1*}, SUWALDI², AKHMAD KHARIS NUGROHO²

¹Fakultas Farmasi, Universitas Jember, Jl. Kalimantan I/No.2, Jember, 68121.

²Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta, 55281.

Diterima 3 Mei 2013, Disetujui 7 Oktober 2013

Abstrak: Ofloksasin merupakan antibiotik yang termasuk dalam kelas 2 pada penggolongan *Biopharmaceutics Classification System* (BCS). Berdasarkan karakteristik senyawa amfoter, kelarutan ofloksasin bergantung pada kondisi pH dan kekuatan ionik pelarutnya. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh pH dan kekuatan ionik pelarut dapar terhadap profil kelarutan ofloksasin. Pengujian kelarutan ofloksasin dengan variasi pH dilakukan pada pH 1,5 sampai dengan 12,5 sedangkan variasi kekuatan ionik antara 0,01 sampai dengan 0,20. Pengujian dilakukan dengan menggunakan *shaking thermostatic-waterbath* selama 3 jam pada suhu $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelarutan ofloksasin semakin meningkat pada pH di bawah pKa1 (6,08) dan di atas pKa2 (8,25), akan tetapi kelarutan ofloksasin semakin menurun pada pH diantara pKa1 dan pKa2. Perubahan pH dari pH 6,2 menjadi pH 1,5 meningkatkan kelarutan ofloksasin hingga 9,96 kali, sedangkan perubahan menjadi pH 12,5 peningkatan kelarutan hingga 8,64 kali. Kelarutan ofloksasin pada berbagai variasi kekuatan ionik menunjukkan bahwa peningkatan kekuatan ionik akan mengakibatkan peningkatan kelarutan. Pengamatan tersebut mengindikasikan terjadinya peristiwa *salting in*. *Least-Square Fitting Analysis* menggunakan persamaan Henderson-Hasselbalch untuk senyawa amfoter kurang dapat menjelaskan proses pelarutan ofloksasin dalam pelarut dapar berbagai pH.

Kata kunci: kelarutan, kekuatan ionik, pH, ofloksasin.

Abstract: Ofloxacin is an antibiotic and categorized as class 2 in *Biopharmaceutics Classification System* (BCS). Ofloxacin solubility is dependent on pH of the solvent due to its amphoteric properties. The objectives of this research was to investigate the effects of pH and ionic strength on solubility profile of ofloxacin. Ofloxacin solubilities were measured at various pH ranged from 1.5 to 12.5 and ionic strengths from 0.01 to 0.20 respectively. Solubility experiments were carried out using shaking thermostatic-waterbath for 3 hours at a temperature of $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Results showed that ofloxacin solubility increased at pH's below the pKa1 value (6.08) and above the pKa2 value (8.25). However, the solubility decreased at pH's between pKa1 and pKa2. Changing the solution pH from 6.2 to 1.5 or to 12.5 affected the solubility of ofloxacin increased about 9.96 and 8.64 times higher, respectively. Ofloxacin solubility in various ionic strengths showed that stronger ionic strength solution caused an increase in ofloxacin solubility. This mean that there was a *salting in* phenomena. *Least-Square Fitting Analysis* using Henderson-Hasselbalch equation for amphoteric compound was insufficient to describe ofloxacin solubility process in a series of pH.

Keywords: solubility, ionic strength, pH, ofloxacin.

* Penulis korespondensi, Hp. 081803141492
e-mail: tiwiks_email@yahoo.co.id



PENDAHULUAN

PROSES formulasi sediaan obat harus diawali dengan tahap preformulasi, yaitu suatu tahapan yang menentukan keberhasilan suatu sediaan obat dalam memberikan efek terapi sesuai dengan yang diharapkan oleh formulator. Faktor kelarutan merupakan salah satu karakteristik fisikokimia yang berperan penting dalam tahap preformulasi terutama jika sediaan ditujukan untuk dibuat dalam bentuk larutan seperti sediaan infus, injeksi, maupun sediaan larutan oral⁽¹⁾. Kelarutan merupakan faktor penentu keberhasilan proses formulasi sediaan obat, selain itu juga dapat mempengaruhi bioavailabilitas dalam proses terapi. Obat di dalam tubuh harus mengalami proses pelarutan terlebih dahulu kemudian diabsorpsi sehingga pada akhirnya dapat memberikan efek farmakologis yang diinginkan dalam jangka waktu tertentu⁽²⁾.

Ofloksasin merupakan antibiotik golongan fluoroquinolon generasi kedua yang termasuk dalam kelas 2 pada penggolongan *Biopharmaceutics Classification System* (BCS)⁽³⁾. Kelarutan ofloksasin bergantung pada kondisi pH pelarut atau lingkungannya. Hal ini disebabkan karena ofloksasin akan bersifat kationik pada kondisi pH di bawah pKa1, anionik di atas pKa2, dan *zwitter ion* pada kondisi pH antara pKa1 dan pKa2^(4,5). Dengan karakteristik yang demikian, maka ofloksasin dipilih sebagai bahan obat dalam penelitian ini.

Peningkatan kelarutan ofloksasin dapat dilakukan dengan mengatur pH lingkungan yaitu dengan menambahkan larutan dapar pada sediaan obat⁽⁶⁾. Saat ini telah banyak dijumpai publikasi ilmiah yang mempelajari sifat kelarutan ofloksasin. Penelitian yang pernah dilakukan adalah membandingkan kelarutan beberapa senyawa fluoroquinolon terhadap pengaruh pH dan temperatur, akan tetapi tidak meneliti profil kelarutan terhadap fungsi pH dan kekuatan ionik secara detail⁽⁷⁾. Penelitian lain yang pernah dilakukan adalah penelitian dalam upaya untuk meningkatkan kelarutan ofloksasin yaitu pembuatan dispersi solid dengan penambahan urea dan manitol⁽⁸⁾. Selain itu juga telah dilakukan pembentukan kompleks dengan beta siklodekstrin untuk meningkatkan kelarutan dan fotostabilitas ofloksasin⁽⁹⁾. Akan tetapi belum ditemukan publikasi yang meneliti tentang pengaruh pH dapar dan kekuatan ionik terhadap kelarutan ofloksasin, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui seberapa besar pengaruh perubahan pH dan kekuatan ionik terhadap profil kelarutan ofloksasin.

Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan data dan profil kelarutan dari bahan obat ofloksasin,

sehingga dapat menunjukkan pengaruh perbedaan pH dan kekuatan ionik terhadap kelarutan ofloksasin. Pada akhirnya hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi data pendukung dalam proses preformulasi dan formulasi sediaan obat dengan bahan aktif ofloksasin.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Ofloksasin (Xinchang Guobang Chemicals Co. LTD) diperoleh dari PT. Dexta Medica Cikarang-Bekasi. Bahan lain: H_3PO_4 (cair), NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , Na_3PO_4 , aquadest, NaOH 1 M, dan NaCl. Bahan-bahan yang digunakan mempunyai standar teknis.

Alat. pH meter (Hanna), *shaking thermostatic-waterbath* (Julabo), *membrane filter* 0,45 μm , spektrofotometer Ultraviolet-Visible (Genesys).

METODE. Preparasi Larutan Dapar Fosfat pH 1,5-12,5 dan Kekuatan Ionik 0,01-0,20. Larutan dapar fosfat pH 1,5 konsentrasi 0,01 M dibuat dengan mencampur 0,801 gram asam fosfat dengan 0,252 gram natrium dihidrogen fosfat, kemudian dilarutkan dengan aquades di dalam labu ukur hingga 1000,0 mL. Variasi kekuatan ionik diperoleh dengan penambahan NaCl pada larutan dapar. Perhitungan kebutuhan NaCl dilakukan dengan cara mengurangi kekuatan ionik total yang diinginkan dengan kekuatan ionik larutan dapar pada berbagai variasi pH, sehingga diperoleh kekuatan ionik NaCl dan pada akhirnya dapat ditentukan jumlah NaCl yang ditambahkan. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum dan pembuatan kurva baku dilakukan pada semua variasi pH dengan membuat suatu seri pengenceran ofloksasin sehingga diperoleh 5 konsentrasi ofloksasin dalam larutan dapar fosfat. Ofloksasin ditimbang saksama 1,0 mg, diencerkan dengan larutan dapar fosfat sampai volume 100,0 mL, kemudian diamati serapannya pada panjang gelombang 200-400 nm untuk mendapatkan panjang gelombang dengan serapan maksimum. Sejumlah volume tertentu dari larutan baku induk tersebut diambil dan diencerkan dengan larutan dapar fosfat hingga diperoleh konsentrasi berturut-turut: 8×10^{-3} , 6×10^{-3} ; 5×10^{-3} ; 4×10^{-3} $\mu g/\mu L$. Larutan baku kerja diamati serapannya pada panjang gelombang maksimum dan diperoleh absorbansi ofloksasin pada masing-masing konsentrasi sehingga dapat dibuat persamaan garis regresi linear.

Penentuan Kelarutan Jenuh Ofloksasin. Larutan dapar sebanyak 2,0 mL dimasukkan ke dalam vial (3 vial) dan diletakkan ke dalam *shaking thermostatic-waterbath* sampai suhu mencapai $37 \pm 1^\circ C$. Ofloksasin dalam jumlah berlebih dimasukkan ke dalam vial dan dilakukan pengocokan dengan kecepatan 140 rpm selama 1,5; 3,0 dan 4,5 jam. Pada setiap rentang waktu diambil 2 mL larutan uji dan disaring menggunakan



membrane filter ukuran 0,45 μm , kemudian sampel dianalisis dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang serapan maksimum. Penentuan kelarutan jenuh dilakukan pada semua kondisi pH yang diuji.

Pengujian Kelarutan Ofloksasin. Pengujian kelarutan ofloksasin pada variasi pH dan kekuatan ionik dilakukan dengan prosedur yang sama dengan penentuan kelarutan jenuh ofloksasin. Akan tetapi waktu pengambilan larutan uji hanya dilakukan pada waktu kelarutan jenuhnya saja.

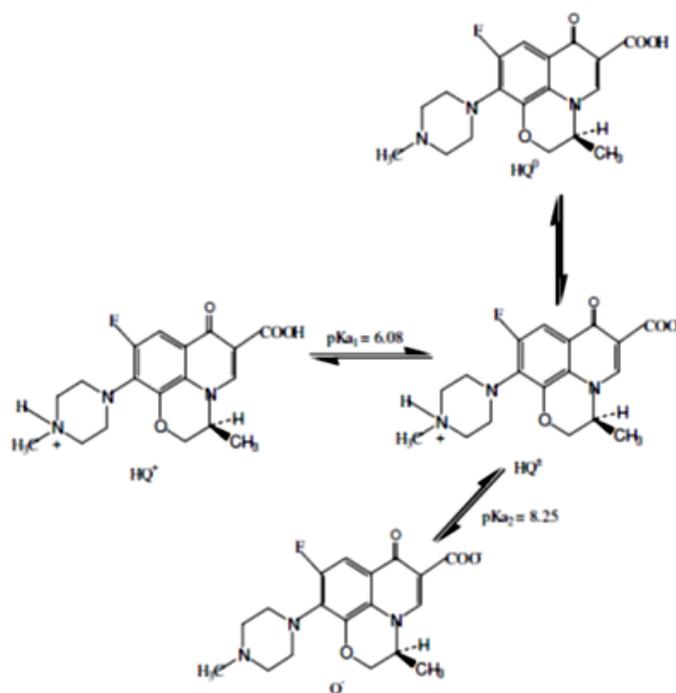
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kurva Baku Ofloksasin. Ofloksasin dengan konsentrasi $10 \times 10^{-3} \mu\text{g}/\mu\text{L}$ diamati serapannya dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 200-400 nm (Tabel 1). Ofloksasin dalam dapar fosfat pH 1,5; 2,0; dan 3,0 memberikan panjang gelombang

maksimum 295 nm. Hal ini disebabkan karena dalam ketiga pH ini, ofloksasin telah mengalami ionisasi dan berada dalam bentuk yang sama yaitu bentuk kation. Panjang gelombang serapan maksimum pada 295 nm terjadi karena terdapat gugus kromofor yang melibatkan posisi N1 menuju ke gugus karboksil⁽¹⁰⁾. Pergeseran hipsokromik yang terjadi dari pH 3,0 menjadi pH 6,2 disebabkan adanya konjugasi yang dihilangkan yaitu terjadinya protonasi pada gugus karboksil⁽¹¹⁾. Ofloksasin dalam dapar fosfat pH 6,2; 7,4; dan 8,0 memiliki panjang gelombang serapan maksimum yang berbeda-beda karena pada kondisi ini ofloksasin berada dalam bentuk *zwitter ion*, akan tetapi tingkat ionisasinya berbeda-beda yaitu diantara pKa1 dan pKa2. Struktur ofloksasin dan tingkat ionisasi pada pKa1 dan pKa2 dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Panjang gelombang serapan maksimum dan persamaan regresi kurva baku ofloksasin dalam larutan dapar fosfat.

pH	λ maksimum (nm)	Persamaan regresi kurva baku
1,5	295	$y = 0,0921x + 0,0103$; $r = 0,9997$
2,0	295	$y = 0,10059x + 0,0095$; $r = 0,9998$
3,0	295	$y = 0,0685x + 0,00276$; $r = 0,9998$
6,2	290	$y = 0,0772x - 0,0188$; $r = 0,9999$
7,4	288	$y = 0,0675x + 0,00033$; $r = 0,9999$
8,0	289	$y = 0,0659x - 0,0197$; $r = 0,9999$
11,4	290	$y = 0,0573x + 0,0062$; $r = 0,9997$
12,0	290	$y = 0,0581x + 0,00043$; $r = 0,9997$
12,5	290	$y = 0,0525x + 0,0032$; $r = 0,9993$



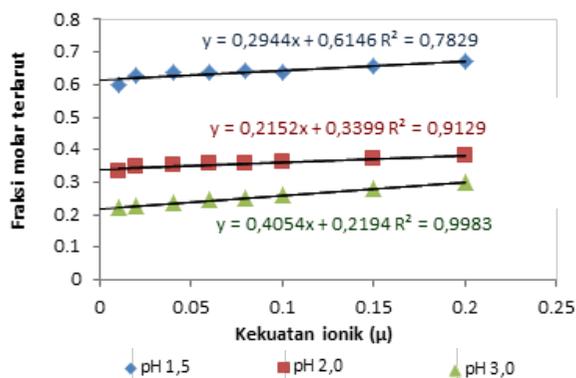
Gambar 1. Struktur ofloksasin dan tingkat ionisasinya (HQ⁰: ofloksasin; HQ⁺: ofloksasin bentuk kation; HQ[±]: ofloksasin bentuk *zwitter ion*; HQ⁻: ofloksasin bentuk anion)⁽¹⁰⁾.



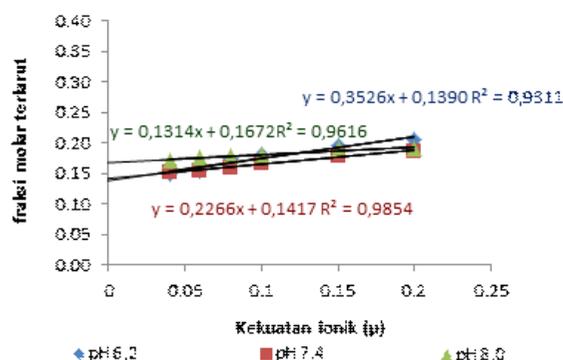
Pergeseran batokromik terjadi saat pH dapar berubah dari pH 8,0 menjadi 11,4 dan selanjutnya panjang gelombang serapan maksimum konstan sampai dengan pH 12,5. Pergeseran ini terjadi karena adanya protonasi pada gugus piperazinil sehingga ofloksasin berada dalam bentuk anion. Panjang gelombang serapan maksimum konstan pada dapar pH 11,4; 12,0; dan 12,5. Pada ketiga kondisi ini ofloksasin telah mengalami ionisasi dan berada dalam bentuk anion, karena berada pada kondisi pH yang lebih dari dua nilai di atas pKa2.

Penentuan Kelarutan Jenuh. Hasil pengujian menunjukkan bahwa waktu kelarutan jenuh ofloksasin pada semua kondisi pH terjadi setelah 3 jam, sebagaimana ditunjukkan dengan hasil penetapan kadar yang tidak berbeda signifikan antara uji kelarutan pada 3 dan 4,5 jam.

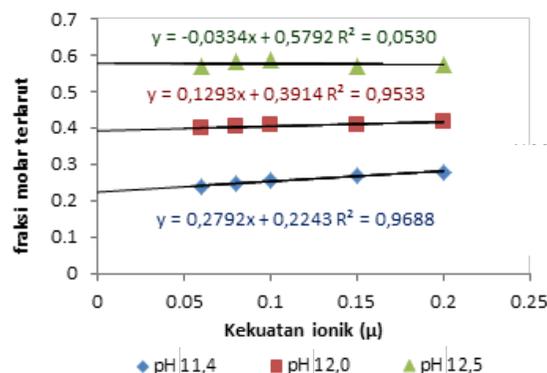
Kelarutan Ofloksasin pada Variasi Kekuatan Ionik. Pengujian kelarutan ofloksasin dengan variasi kekuatan ionik dilakukan pada pH 1,5 sampai dengan 12,5 menggunakan alat *shaking thermostatic-waterbath* pada suhu $37 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 3 jam. Hasil uji kelarutan, kemudian dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang serapan maksimum (Gambar 2, Gambar 3, dan Gambar 4).



Gambar 2. Profil fraksi molar terlarut ofloksasin dalam larutan dapar fosfat pH 1,5; 2,0 dan 3,0 pada kekuatan ionik (μ) 0,01- 0,20.



Gambar 3. Profil fraksi molar terlarut ofloksasin dalam larutan dapar fosfat pH 6,2; 7,4 dan 8,0 pada kekuatan ionik (μ) 0,04- 0,20.



Gambar 4. Profil fraksi molar terlarut ofloksasin dalam larutan dapar fosfat pH 11,4; 12,0 dan 12,5 pada kekuatan ionik (μ) 0,06-0,20.

Hubungan antara kekuatan ionik dan kelarutan ofloksasin dalam larutan dapar pH 1,5; 2,0; dan pH 3,0 pada Gambar 2 dan pH 6,2; 7,4; dan 8,0 pada Gambar 3 menunjukkan *slope* yang positif, sehingga dapat dinyatakan bahwa kelarutan ofloksasin akan meningkat dengan meningkatnya kekuatan ionik. Pada kondisi ini ofloksasin menunjukkan terjadinya peristiwa *salting in*, yaitu kondisi yang menunjukkan terjadinya peningkatan kelarutan dengan adanya penambahan garam NaCl.

Persamaan yang diperoleh dari hubungan antara kekuatan ionik dengan fraksi molar terlarut dari ofloksasin pada pH 11,4 dan pH 12,0 (Gambar 4) juga memberikan *slope* positif yang menunjukkan terjadinya *salting in*. Ofloksasin dalam kondisi pH 12,5 memberikan hasil *slope* negatif yang menunjukkan bahwa peningkatan kekuatan ionik akan menyebabkan kelarutan ofloksasin semakin kecil atau terjadi peristiwa *salting out*⁽¹²⁾.

Salting in dapat terjadi karena ion-ion dari NaCl akan berinteraksi dengan molekul air atau pelarut sehingga dapat meningkatkan kelarutan ofloksasin. Peningkatan jumlah NaCl yang ditambahkan menyebabkan peningkatan jumlah ion dalam larutan sehingga interaksi antara solut dengan solven juga akan meningkat dan pada akhirnya akan meningkatkan kelarutan ofloksasin. *Salting out* dalam hal ini dapat terjadi karena kemungkinan terjadinya misel dalam larutan ofloksasin pada pH 12,5. Ofloksasin dalam bentuk kation (pH asam) dan anion (pH basa) memiliki struktur molekul yang menyerupai struktur molekul surfaktan kationik dan anionik. Pada pH yang jauh di bawah pKa1 dan jauh di atas pKa2 akan semakin banyak jumlah ofloksasin yang terlarut dan terionisasi sehingga dapat menyebabkan gugus lipofilik bergabung dan menata dirinya sehingga dapat membentuk suatu misel. Dengan demikian pada kondisi tertentu maka ofloksasin yang telah menjadi misel akan membantu proses pelarutan ofloksasin

yang tidak berada dalam bentuk misel sehingga kelarutan ofloksasin akan semakin meningkat dengan tajam. Efek pelarutan yang terjadi berhubungan dengan adanya bentuk kation dan anion dari ofloksasin pada nilai pH tertentu⁽¹²⁾.

Efek penambahan garam terhadap kelarutan suatu solut dapat dikuantitasi dengan menggunakan persamaan Setschenow, persamaan [1]⁽²⁾, sehingga diperoleh nilai *salting coefficient* dengan rentang 3,5772 sampai dengan -2,8037.

$$\log \frac{S}{S_a} = k \cdot Ca \quad [1]$$

Harga *salting coefficient* pada berbagai kondisi pH dan kekuatan ionik sebagian besar memberikan nilai negatif yang menunjukkan bahwa penambahan NaCl dapat menyebabkan menurunnya koefisien aktivitas dari ofloksasin pada larutan dapar⁽²⁾. Akan tetapi pada beberapa kondisi pH dan kekuatan ionik, yaitu pada pH 1,5 dengan kekuatan ionik 0,01 dan pH 2,0 pada kekuatan ionik 0,01 serta pada pH 12,5 pada kekuatan ionik 0,06; 0,15; dan 0,20 memberikan nilai *salting coefficient* positif yang menunjukkan bahwa penambahan garam NaCl dapat menurunkan kelarutan ofloksasin. Hasil yang bertolak belakang tersebut disebabkan karena kemungkinan terbentuknya misel pada nilai-nilai pH dan kekuatan ionik tersebut.

Hubungan koefisien aktivitas dengan kelarutan pada larutan non ideal juga dapat dijelaskan dengan menggunakan persamaan [2]⁽¹²⁾:

$$-\log X_2 = \frac{\Delta H_f}{2,303R} \times \frac{(T_o - T)}{(T_o T)} + \log \gamma_2 \quad [2]$$

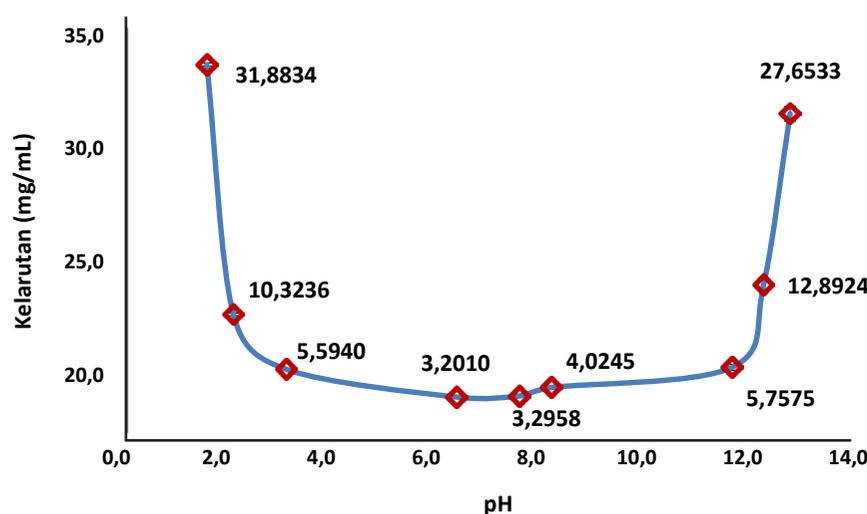
Dari persamaan tersebut dapat diketahui bahwa peningkatan koefisien aktivitas (γ_2) dapat menurunkan kelarutan (X_2) suatu senyawa. Dalam hal ini kelarutan ofloksasin akan meningkat dengan menurunnya

koefisien aktivitas yang ditunjukkan dengan harga *salting coefficient* yang memberikan nilai negatif.

Kelarutan Ofloksasin Pada Variasi pH 1,5-12,5. Data kelarutan ofloksasin dalam dapar fosfat pH 1,5 sampai dengan pH 12,5 tanpa dipengaruhi oleh faktor kekuatan ionik (μ) diperoleh dari persamaan hubungan antara kelarutan dan kekuatan ionik pada masing-masing pH. Kelarutan ofloksasin pada masing-masing pH dihitung dari intersep yang diperoleh pada masing-masing persamaan (Gambar 5).

Secara teoritis ofloksasin memiliki kelarutan yang rendah dalam pelarut berair karena struktur ofloksasin yang rigid, selain itu ofloksasin memiliki jarak lebur yang tinggi yaitu antara 260-270°C⁽¹³⁾. Profil kelarutan ofloksasin pada Gambar 5 menunjukkan bahwa kelarutan ofloksasin sangat dipengaruhi pH pelarut atau lingkungannya. Pada lingkungan dengan pH rendah, ofloksasin berada dalam bentuk kation sedangkan dalam lingkungan dengan pH tinggi, ofloksasin akan berbentuk anion. Perubahan bentuk ionisasi dari ofloksasin terjadi secara proporsional sesuai dengan fungsi pH. Tingkat ionisasi dan bentuk ion yang berbeda ini menyebabkan perubahan terhadap kelarutan total ofloksasin⁽¹⁴⁾. Peningkatan kelarutan yang tinggi pada kondisi pH 1,5 dan 12,5 dapat terjadi diduga karena terbentuknya misel dari ofloksasin itu sendiri. Pada pH yang jauh di bawah pKa1 dan jauh di atas pKa2 akan semakin banyak jumlah ofloksasin yang terlarut dan terionisasi sehingga dapat menyebabkan gugus lipofilik bergabung dan menata dirinya sehingga dapat membentuk suatu misel⁽¹⁵⁾.

Kelarutan suatu senyawa terhadap fungsi pH dapat diprediksi nilainya dengan menggunakan *Least-Square Fitting Analysis*⁽¹⁴⁾. Dalam analisis ini data kelarutan ofloksasin dibagi menjadi dua bagian, yaitu bagian dengan kondisi pH di bawah titik isoelektrik

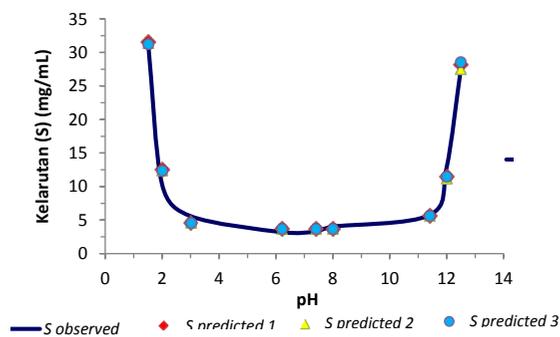


Gambar 5. Profil kelarutan ofloksasin dalam dapar fosfat pH 1,5-12,5 pada suhu $37 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 3 jam (angka pada grafik menunjukkan kelarutan ofloksasin pada masing-masing pH).



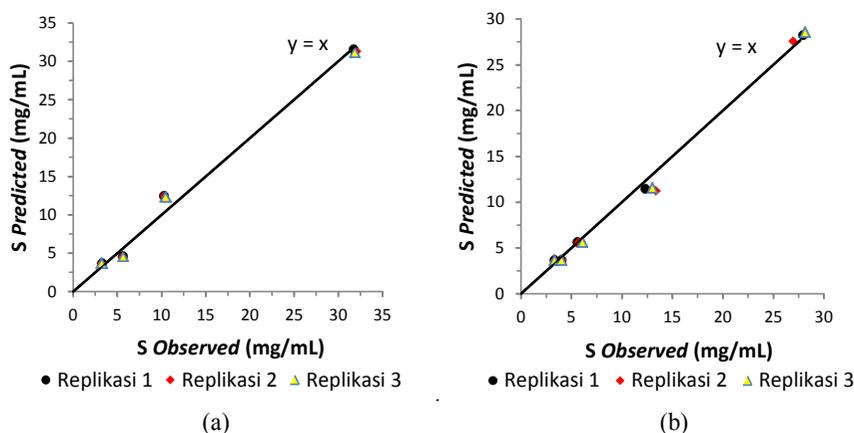
dan kondisi pH di atas titik isoelektrik. Titik isoelektrik atau nilai pI yang digunakan berdasarkan nilai hasil penelitian terdahulu yaitu sebesar 7,14⁽¹⁶⁾.

Gambar 6 adalah hasil perhitungan atau prediksi kelarutan ofloksasin pada pH 1,5-12,5 dengan pengulangan data sebanyak tiga kali. Profil kelarutan hasil uji kelarutan (*observed*) dan hasil perhitungan (*predicted*) dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 6. Profil kelarutan (S) ofloksasin *observed* dan *predicted* pada pH 1,5 – 12,5 dengan 3 replikasi.

Kelarutan ofloksasin hasil observasi dan prediksi (Gambar 5) dengan *Least-Square Fitting Analysis* menggunakan rumus Henderson-Hasselbalch pada pH 1,5 -12,5 memiliki bentuk profil yang relatif sama. Hal ini dapat dibuktikan dengan profil seperti pada gambar 7a dan 7b.



Gambar 7. Profil kelarutan (S) *observed* – *predicted* pada (a) nilai pH di bawah pI dan (b) nilai pH di atas pI dengan 3 replikasi.

lain yang terjadi dalam proses pelarutan ofloksasin, misalnya terbentuknya misel pada pH 1,5 dan 12,5.

Hubungan antara kelarutan dengan pH dan kekuatan ionik dapat diperoleh dengan membuat profil kelarutan terhadap pH pada nilai kekuatan ionik tertentu seperti yang terlihat pada Gambar 8.

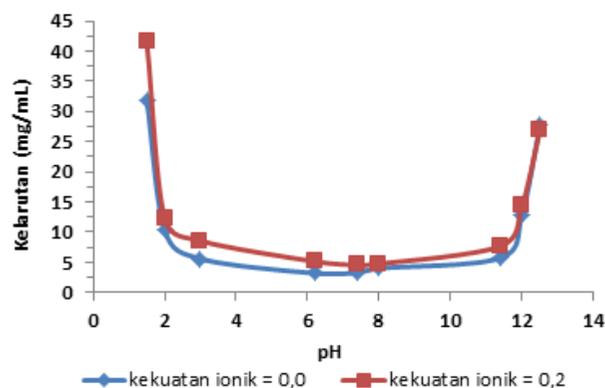
Gambar 8 menunjukkan bahwa pada kekuatan ionik yang berbeda, hubungan kelarutan ofloksasin dengan pH memiliki bentuk profil yang relatif sama. Perbedaan

Gambar 7 merupakan salah satu cara untuk melakukan evaluasi *curve fitting* yaitu sebagai ukuran kesesuaian antara nilai hasil observasi dengan nilai hasil perhitungan atau prediksi. Suatu data dinyatakan memiliki kesesuaian yang baik apabila nilai $y = x$. Profil yang diperoleh menunjukkan bahwa nilai *S observed* – *S predicted* pada ketiga replikasi memberikan nilai yang mendekati garis $y = x$. Akan tetapi hasil perhitungan dengan *Least-Square Fitting Analysis* menggunakan persamaan Henderson-Hasselbalch memberikan hasil konstanta disosiasi (pKa) yang jauh dari nilai yang telah diteliti sebelumnya. Nilai pKa yang diperoleh dari hasil perhitungan dengan tiga replikasi uji kelarutan yaitu: $pKa_1 = 2,372 \pm 0,003$ dan $pKa_2 = 11,683 \pm 0,009$; sedangkan pKa hasil penelitian atau observasi⁽¹⁷⁾: $pKa_1 = 6,08$ dan $pKa_2 = 8,25$.

Berdasarkan nilai pKa yang diperoleh dari hasil perhitungan, dapat diketahui bahwa persamaan Henderson-Hasselbalch kurang menggambarkan mekanisme atau proses terlarutnya ofloksasin dalam pelarut dengan variasi pH. Hal ini dapat terjadi karena persamaan Henderson-Hasselbalch menjelaskan tentang proses pelarutan senyawa dari kondisi tak terion menjadi terion, sedangkan pada ofloksasin, proses pelarutan terhadap fungsi pH terjadi dari kondisi *zwitter ion* menjadi bentuk terion (anion dan kation). Selain itu juga diduga terdapat mekanisme

nilai kelarutan disebabkan adanya penambahan NaCl pada kekuatan ionik 0,2 seperti telah dijelaskan pada bagian sebelumnya. Dari profil tersebut dapat diperoleh nilai simpangan baku (SD) yang besar pada pH 1,5 yaitu dengan SD sebesar 6,7929. Nilai SD yang cukup besar ini menunjukkan bahwa peningkatan kekuatan ionik pada pH 1,5 memberikan perbedaan kelarutan ofloksasin yang cukup besar jika dibandingkan dengan kondisi pH yang lain.





Gambar 8. Profil kelarutan ofloksasin dalam larutan dapar fosfat pH 1,5-12,5 pada kekuatan ionik (μ) 0,0 dan 0,2.

Data kelarutan ofloksasin yang berbeda pada berbagai pH dan kekuatan ionik ini dapat menjadi salah satu data awal dalam tahap preformulasi yang mendukung penentuan bentuk sediaan dan penggunaan bahan tambahan dalam formulasi sediaan yang diinginkan. Dengan demikian dapat diperoleh suatu sediaan dengan bahan aktif ofloksasin yang memenuhi persyaratan mutu aman, efektif, stabil dan akseptabel.

SIMPULAN

Kelarutan ofloksasin meningkat pada pH di bawah nilai pK_{a1} dan di atas nilai pK_{a2} . Perubahan pH dari pH 6,2 menjadi 1,5 dan 12,5 menyebabkan peningkatan kelarutan ofloksasin sekitar sepuluh kalinya. Peningkatan kekuatan ionik dengan penambahan NaCl pada berbagai kondisi pH menyebabkan terjadinya efek *salting in*, akan tetapi pada pH 12,5 penambahan garam NaCl menyebabkan efek *salting out*. Pemberian NaCl memberikan nilai *salting coefficient* dengan rentang 3,5772 sampai dengan -2,8037. Nilai *salting coefficient* yang negatif menunjukkan bahwa pemberian NaCl menyebabkan peningkatan kelarutan dan nilai positif menunjukkan penurunan kelarutan ofloksasin. *Least-Square Fitting Analysis* dengan menggunakan rumus Henderson-Hasselbalch untuk senyawa amfoter kurang dapat menjelaskan proses pelarutan ofloksasin dalam pelarut dapar pada berbagai pH.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Suwaldi M., M.Sc., Apt. atas bimbingan yang diberikan dalam riset ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Banker GS and Rhodes CT. Modern pharmaceutics. 4th Ed. New York: Marcel Dekker Inc.; 2002. 175-85.
2. Florence AT and Attwood D. Physicochemical

principles of pharmacy. 4th Ed. Hongkong: MacMillan; 2006. 140-76.

3. Wu CY and Benet LZ. Predicting drug disposition via application of BCS: Transport/absorption/elimination interplay and development of a biopharmaceutics drug disposition classification system. *Pharmaceutical Research*. 2005. 22(1):11-23.
4. Okeri HA and Arhewoh IM. Analytical profile of the fluoroquinolone antibacterials I. Ofloxacin. *Afr. J. Biotechnol.* 2008. 7(6):670-80.
5. Ross DL and Riley CM. Dissociation and complexation of the fluoroquinolone antimicrobials - an update. *J.Pharm. Biomed. Anal.* 1994. 2(2):1325-31.
6. Sinko PJ. *Martin's physical pharmacy and pharmaceutical sciences*. 5th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. 161-265.
7. Ross DL and Riley CM. Aqueous solubilities of some variously substituted quinolone antimicrobials. *Int. J. Pharm.* 1990. 63(3):237-50.
8. Okonogi S, Oguchi T, Yonemochi E, Puttipipatkachorn S, Yamamoto K. Improved dissolution of ofloxacin via solid dispersion. *Int. J. Pharm.* 1997. 156(2):175-80.
9. Koester LS, Guterres SS, Le Roch M, Eifler-Lima VL, Zuanazzi JA, Bassani VL. Ofloxacin/beta-cyclodextrin complexation. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2001. 27(6): 533-40.
10. Park HR, Chung HC, Lee JK, and Bark KM. Ionization and divalent cation complexation of quinolones antibiotics in aqueous solution. *Bull. Korean Chem. Soc.* 2000. 21(9):849-53.
11. Supratman U. *Elusidasi struktur senyawa organik*. Bandung: Widya Padjajaran; 2010. 21-54.
12. Gupta PK. *Solutions and phase equilibria in Remington, the science and practice of pharmacy*. 20th Ed. Pennsylvania: Mack-Publishing Co.; 2000. 208-26.
13. Flor S. Pharmacokinetics of ofloxacin - an overview. *Am. J. Med.* 1989. 87(6):24S-30S.
14. Needham TE, Paruta AN, Gerraughty RJ. Solubility of amino acid in pure solvent system. *J. Pharm. Sci.* 1971. 60(4):565-7.
15. Pandit NK and Strykowski JM. Effect of pH and temperature on the solubility of a surface active carboxylic acid. *J. Pharm. Sci.* 1989. 78(9):767-70.
16. Ross DL and Riley CM. Physicochemical properties of the fluoroquinolone antimicrobials II acid ionization constant and their relationship to structure. *Int. J. Pharm.* 1992. 83:267-72.
17. Goynes KW, Chorover J, Kubicki JD, Zimmermann AR. Absorption of the antibiotic ofloxacin to mesoporous and nonporous alumina and silica. *J. Colloid Interface Sci.* 2005. 283:106-70.

