REVIEW: VARIASI METODE UJI DISOLUSI TERBANDING (UDT)

Nor Izzati binti Mohamad Nor, Rina Fajri Nuwarda

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung Sumedang KM 21, Jatinangor Indonesia
zatyynono@gmail.com

ABSTRAK

Menurut BPOM, uji ekivalensi sesuatu produk obat dapat dilakukan dengan Uji Disolusi Terbanding (UDT). UDT adalah uji disolusi komparatif yang dilakukan untuk menunjukkan similaritas ataupun perbedaan profil disolusi antara obat uji dengan obat inovator/komparator. UDT juga dapat digunakan untuk memastikan ekivalensi dan sifat-sifat produk sesuatu produk obat. Uji ini dilakukan dalam media disolusi dengan pH yang disesuaikan dengan kondisi *in vitro* yaitu pada pH 1,2; 4,5; dan 6,8. Terdapat tiga metode yang dianjurkan oleh FDA untuk melakukan uji disolusi terbanding ini seperti metode model-independen, metode model-dependen dan metode ANOVA. Hasil daripada penelitian, metode berbasis ANOVA dan model-dependen agak rumit dan lebih diskriminatif jika dibandingkan dengan metode model-independent (*f-factors*).

Kata kunci: ANOVA, model-dependen, model-independen, UDT, uji disolusi terbanding

ABSTRACT

According to BPOM, the equivalence test of a drug product can be done with the Comparative Dissolution Test (CDT). CDT is a comparative dissolution test conducted to show the similarity or dissimilarity dissolution profiles between test drugs and innovator / comparator drugs. CDT can also be used to ensure the equivalence and product properties of a drug product. The test was performed in a dissolution medium with pH adjusted to in vitro conditions at pH 1.2; 4.5; And 6.8. There are three methods recommended by the FDA to perform this comparative dissolution test such as model-independent method, model-dependent method and ANOVA method. Based on the results, the ANOVA-based and model-dependent methods are more complex and more discriminative than the model-independent (f-factors) method.

Keywords: ANOVA, comparative dissolution test, model-dependent, model independent

Pendahuluan

Obat dengan kandungan dan bahan aktif yang sama beredar di pasaran dengan nama yang berbeda. Produk yang berbeda dengan jumlah *Active Pharmaceutical Ingredients* (API) yang sama dapat menunjukkan perbedaan pada efek terapeutiknya (Esimone et al., 2008). Hal ini mungkin karena perbedaan tingkat penyerapan, perbedaan antara kemurnian bahan aktif, jenis eksipien, variabel manufaktur seperti pengaruh metode pencampuran dan prosedur granulasi serta parameter *coating* (Pillay and Fasshihi, 1998).

Sesuatu sediaan farmasi seharusnya memenuhi tiga kriteria utama yakni *safety* (aman), *efficacy* (berefek), dan *quality* (berkualitas). Untuk produk inovator, evaluasi mengenai ketiga hal tersebut telah dilakukan secara komprehensif dan menyeluruh, mulai dari uji pre-klinik, uji klinik, sehingga *post-marketing surveillance* dengan biaya yang sangat besar. Namun bagi produk obat generik (obat *copy*), telah dipersyaratkan untuk memenuhi persyaratan uji ekivalensi baik secara *in vitro* maupun *in vivo* (Badan POM RI, 2004).

Uji ekivalensi secara *in vitro* dapat dilakukan menggunakan uji disolusi terbanding dengan menggunakan 3 medium disolusi yang berbeda; yaitu medium asam

klorida pH 1,2 atau simulasi cairan lambung tanpa enzim, medium dapar sitrat pH 4,5 dan medium dapar fosfat pH 6,8 atau simulasi cairan intestinal tanpa enzim (FDA,2000). Uji disolusi terbanding dilakukan bertujuan untuk membandingkan profil disolusi antara produk uji terhadap produk inovator. Uji ini juga merupakan studi awal sebelum uji ekivalensi secara *in vivo* dilakukan.

Secara umumnya, metode untuk pengujian uji disolusi terbanding *in vitro* ini terbagi menjadi tiga kelompok utama; yaitu metode berbasis analisis varians (ANOVA) (Mauger et al., 1986; Pollo et al., 1997), metode model-independen (Sathe et al., 1996; Shah et al., 1997) dan metode model-dependen (Podczeck, 1993; Moore and Flanner, 1996). Metode berbasis ANOVA tidak bergantung pada prosedur pemasangan kurva dan data disolusi digunakan dalam bentuk *native* atau sebagai transformasi sederhana dan analisisnya mampu menunjukkan perbedaan antara tingkat profil dan bentuk. Karakterisasi metode model-dependen atau metode model-independen bergantung pada nilai yang digunakan untuk melakukan perhitungan. Metode model-dependen bagaimanapun, didasarkan pada fungsi matematika yang berbeda, yang menggambarkan profil disolusi. Setelah fungsi yang sesuai telah dipilih, profil

disolusi dievaluasi bergantung pada parameter model turunan.

Tujuan daripada review ini adalah untuk mengetahui apakah metode perbandingan profil disolusi yang berbeda yang dapat diaplikasikan dalam melakukan penelitian uji disolusi terbanding serta mengevaluasi setiap metode tentang cara perhitungan yang berbeda untuk mendapatkan nilai profil disolusi.

Percobaan

Bahan

Tablet inovator dan produk obat uji yang ingin digunakan, bahan baku yang sesuai berdasarkan USP dan aquadest.

Alat

Alat uji disolusi tipe 2 (tipe dayung), pH meter, spektrofotometer UV, alat suntik, kertas saring Whatman no 40, timbangan analitik, dan alat-alat gelas lainnya.

Metode

Bagi pembuatan kurva kalibrasi larutan baku dan uji disolusi, prosedur pembuatan dilakukan sesuai dengan tablet yang ingin diuji.

Uji Disolusi Terbanding

Uji disolusi terbanding dilakukan dengan menggunakan tiga medium disolusi yang berbeda yaitu medium asam klorida pH 1,2; medium dapar sitrat pH 4,5; dan medium dapar fosfat pH 6,8, dengan masing-masing sebanyak 900 ml dengan suhu $37 \pm 0,5$ ° C. Uji dilakukan dengan

menggunakan alat uji disolusi tipe 2 (tipe dayung) dengan kecepatan kelajuan putaran berdasarkan *British Pharmacopeia guideline* selama 60 menit. Pengambilan sampel sebanyak 5 ± 0.1 ml secara manual akan dilakukan pada menit ke 10, 15, 30, 45 dan 60 dan cairan akan diganti dengan volume yang sama untuk memastikan volume disolusi selalu konstan. Sampel kemudian akan diukur kadarnya dengan menggunakan spektrofotometer UV. Untuk setiap produk tablet dilakukan pengujian sebanyak 12 unit sediaan pada masing-masing medium uji.

Analisis Data Bagi Pengujian Uji Disolusi Terbanding

Metode model-independen

Metode model-independen ini akan menghasilkan nilai profil disolusi yang akan memberikan perbandingan langsung dari data disolusi. Metode model-independen ini terbagi dua, yaitu tes rasio dan *f-factors*.

Tes rasio

Tes rasio dilakukan sebagai rasio persen obat yang dilarutkan, area di bawah kurva disolusi, dan rata-rata waktu disolusi dari formulasi referensi dengan formulasi uji pada waktu sampling yang sama. Tes rasio yang paling umum dilakukan adalah dengan perbandingan dua rata-rata waktu disolusi atau *mean dissolution times* (MDTs), yang dapat dihitung menggunakan;

$$MDT = \frac{\sum_{i=1}^n \bar{t}_i \Delta M_i}{\sum_{i=1}^n \Delta M_i}$$

dimana i nomor sampel, n adalah nomor disolusi waktu sampel, $\bar{t}_i = \frac{t_{i-1} + t_i}{2}$ adalah waktu di titik tengah antara t_{i-1} dan t_i , dan ΔM_i adalah jumlah tambahan pbat terlarut antara t_{i-1} dan t_i .

Variance of dissolution times (VTs) boleh dihitung dengan menggunakan;

$$VT = \frac{\sum_{i=1}^n (\bar{t}_i - MDT)^2 \Delta M_i}{\sum_{i=1}^n \Delta M_i}$$

Dan relative dispersion of dissolution times (RDs) menggunakan;

$$RD = \frac{VT}{MDT^2}$$

F-factors

F-factors terbagi kepada faktor perbedaan (f_1) dan faktor kesamaan (f_2). Faktor perbedaan menghitung perbedaan persentase antara dua kurva pada setiap titik dan mengukur persentase kesalahan sepanjang semua titik waktu dengan menggunakan rumus;

$$f_1 = \frac{\sum_{i=1}^n |R_i - T_i|}{\sum_{i=1}^n R_i}$$

dimana R_i dan T_i adalah persentase obat yang melarut daripada referensi dan produk uji pada setiap titik sampel.

Faktor kesamaan, f_2 dapat dihitung dengan menggunakan rumus;

$$f_2 = 50 \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (R_i - T_i)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

Dimana R_i adalah jumlah zat terlarut dari tablet inovator pada waktu tertentu, dan T_i adalah jumlah zat terlarut dari tablet uji pada waktu tertentu.

Metode model-dependen

Metode model-dependen adalah metode matematis yang digunakan secara ekstensif untuk mempresentasikan parametrik dari data disolusi. Interpretasi kuantitatif terhadap nilai yang diperoleh dalam pengujian disolusi lebih mudah dengan menggunakan persamaan matematis, yang mengekspresikan profil pelepasan API yang berfungsi untuk beberapa paramater yang terkait dengan bentuk sediaan farmasi. Beberapa model matematika yang paling relevan dan lebih sering digunakan serta yang menggambarkan profil disolusi *multipoint* adalah seperti di bawah ini;

i. Model Zero-Order

Merupakan pelarutan obat dari bentuk sediaan yang tidak dipisahkan dan pelepasan obat secara perlahan yang dapat dinyatakan dengan menggunakan rumus;

$$Qt = Q_0 + K_0 t$$

dimana Q_t adalah jumlah obat terlarut pada waktunya, Q_0 adalah jumlah awal obat dalam larutan (pada kebiasaannya $Q_0 = 0$) dan K_0 adalah konstanta pelepasan urutan nol yang dinyatakan dalam satuan konsentrasi / waktu.

Aplikasi : Rumus ini dapat digunakan untuk menggambarkan pelarutan obat dari beberapa jenis bentuk sediaan modified release, seperti dalam kasus beberapa sistem transdermal, serta tablet matriks dengan obat terlarut rendah dalam bentuk coated dan sistem osmotik.

ii. Model *First-Order*

Model ini digunakan untuk menggambarkan absorpsi/eliminasi obat tertentu, meskipun sulit untuk mengkonseptualisasikan mekanisme ini secara teoritis. Pelepasan obat yang mengikuti kinetika orde

pertama ini dapat dihitung menggunakan rumus;

$$dC/dt = -KC$$

dimana, K adalah tingkat pertama order konstan dalam unit $time^{-1}$.

Rumus ini juga dapat dihitung menggunakan;

$$\log C = \log C_0 - Kt/2.303$$

dimana, C_0 adalah konsentrasi awal obat, K adalah tingkat pertama order konstant, dan t adalah masa.

Aplikasi : Rumus ini dapat digunakan untuk menggambarkan pelarutan obat dalam bentuk sediaan farmasi seperti obat yang larut dalam air dalam sistem berpori.

iii. Model Higuchi

Merupakan contoh pertama bagi model matematis yang bertujuan untuk menggambarkan pelepasan obat dari sistem matriks yang telah diusulkan oleh Higuchi

pada 1961. Pada awalnya model ini disusun untuk sistem planar, namun diperluas ke sistem geomatik dan sistem berpori yang berbeda. Rumus bagi Higuchi model ini adalah;

$$ft = Q = K_H * t^{1/2}$$

dimana Q adalah jumlah pelepasan obat dalam waktu t per satuan luas. K_H adalah Higuchi konstan disolusi.

Aplikasi : Rumus ini dapat digunakan untuk menggambarkan disolusi obat daripada beberapa tipe sediaan farmasi modified release, seperti beberapa sistem transdermal dan tablet matrix yang larut dalam air.

iv. Model Hixson and Crowell

Hixson dan Crowell menyatakan bahwa area reguler partikel sebanding dengan *cube root* volumenya. Mereka mendapatkan persamaan;

$$W_0^{1/3} - W_t^{1/3} = k t$$

dimana, W_0 adalah jumlah awal obat dalam bentuk sediaan farmasi, W_t adalah jumlah obat yang tersisa dalam bentuk sediaan farmasi pada waktu t, dan k ($Kappa$) adalah konstanta yang menggabungkan hubungan volume - permukaan. Persamaan tersebut menggambarkan pelepasan dari sistem dimana ada perubahan pada area permukaan dan diameter partikel atau tablet.

Aplikasi : Ekspresi ini berlaku untuk bentuk sediaan farmasi seperti tablet, dimana disolusi terjadi pada bidang yang sejajar

dengan permukaan obat jika dimensi tablet berkurang secara proporsional.

v. Model Korsmeyer-Peppas

Korsmeyer memperoleh hubungan semi-empirikal sederhana yang menghubungkan pelepasan obat secara eksponensial dari sistem polimerik berkenaan dengan waktu kambuh. Untuk mengetahui mekanisme pelepasan obat, data pelepasan obat pertama 60% digunakan dalam Korsmeyer-Peppas model.

$$M_t / M_\infty = K * t^n$$

dimana, M_t / M_∞ adalah pelepasan pelepasan obat pada waktu t , K adalah laju pelepasan konstan dan n adalah eksponen pelepasan

Aplikasi Model ini digunakan untuk menganalisa pelepasan bentuk sediaan polimer, ketika mekanisme pelepasan tidak diketahui atau bila lebih dari satu jenis fenomena pelepasan yang terlibat.

Metode model ANOVA

Dalam model ini, persentase yang dilarutkan adalah variabel terikat dan waktu merupakan faktor yang berulang. Sumber variasi adalah waktu, produk obat, dan interaksi antara waktu dan produk obat. Percobaan dimulai dengan melakukan pendekatan multivariat (MANOVA). MANOVA mampu menguji apakah ada perbedaan yang signifikan antara produk obat-obatan dengan persen yang dilarutkan bergantung waktu, contohnya dengan

melihat apakah disolusi profil produk obat itu paralel. *Wilks lambda* statistik lebih sering digunakan untuk mendapatkan nilai p pada MANOVA (Kanik, 1999). Untuk tahap kedua, satu kelompok univariat analisis berulang (univariat ANOVA) dilakukan. Kali ini, persentase yang dilarutkan, diuji secara terpisah pada setiap titik waktu untuk melihat apakah ada perbedaan di antara produk obat tersebut. Maka prosedur post hoc diterapkan untuk menentukan dari mana perbedaan itu muncul: perbandingan berpasangan sebagai produk uji terhadap produk rujukan dilakukan dengan perbandingan ganda menggunakan uji *Dunnnett's t-test* (dua sisi) dan kontras berulang diterapkan secara terpisah untuk setiap produk obat bagi perbandingan persen yang dilarutkan pada waktu berurutan. Kontras juga merupakan jenis perbandingan ganda (Lomax, 1998). Untuk metode berbasis ANOVA, analisis dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *SPSS 8.0 for Windows*.

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan tiga metode yang dianjurkan oleh FDA, ternyata setiap daripada metode mempunyai kelebihan dan kekurangan yang tersendiri.

Metode model-independen

Antara model-independen, *f-factors* lebih sering digunakan untuk penelitian uji disolusi terbanding. Faktor perbedaan (f_1) adalah sebanding dengan perbedaan rata-

rata antara kedua profil, sedangkan faktor kemiripan (f_2) berbanding terbalik dengan perbedaan kuadrat rata-rata antara dua profil, dengan penekanan pada perbedaan yang lebih besar di antara semua titik waktu. Penggunaan faktor-faktor ini juga direkomendasikan untuk perbandingan profil disolusi dalam panduan FDA untuk industri (FDA, 1995). Sesuai dengan panduan ini, umumnya nilai f_1 sehingga 15 (0-15) dan nilai f_2 lebih besar dari 50 (50-100) bagi memastikan kesamaan atau kesetaraan dari dua kurva.

Shah dkk. (1998) menyatakan bahwa, *f-factors* mempunyai sensitifitas setelah disolusi 85%, maka direkomendasikan jumlah titik sampel dibatasi tidak lebih dari satu, setelah sampel mencapai disolusi 85%. Oleh karena itu, nilai faktor f_1 dan f_2 dihitung secara terpisah untuk disolusi hingga menit ke 20 (waktu dimana 85% bahan obat dilarutkan dari produk yang diuji), menit ke 30 (waktu di mana profil disolusi hampir mencapai dataran tinggi akhir), dan menit ke 45 hingga ke 60 (waktu dimana proses disolusi selesai).

Terdapat pendekatan baru yang telah dikembangkan oleh Prior dkk. (2002) mengenai faktor persamaan (f_2). Dalam penelitian tersebut, telah ditunjukkan bahwa faktor kesamaan (f_2) adalah ukuran sederhana untuk perbandingan dua profil disolusi. Distribusi statistik matrik f_2 telah

disimulasikan dengan menggunakan metode *Bootstrap*. Distribusi yang relatif kuat dan koreksi statistik kemiringan dapat diperoleh.

Metode model-dependen

Model standar dalam analisis data disolusi adalah hukum *cubic root* (Hixson dan Crowell, 1931), persamaan waktu akar kuadrat (Higuchi, 1963), dan eksponensial orde pertama (Gibaldi dan Feldman, 1967). Namun, untuk kasus tablet secara umum, interaksi disintegrasi dan disolusi adalah rumit dan memerlukan model yang sesuai untuk profil disolusi berbentuk S.

Setelah melengkapi model ini dengan data disolusi unit individual, pemilihan didasarkan pada perbandingan fitur berikut dari model: (i) koefisien determinasi yang lebih tinggi, (ii) perbedaan absolut yang lebih kecil antara masing-masing persentase yang dipersiapkan dengan yang benar-benar terlarut dan (iii) rata-rata kuadrat sisa yang lebih kecil. Dalam menentukan model mana yang lebih akurat, diplot grafik kuantitas produk uji yang terdisolusi terhadap titik masa yang berbeda.

Metode ANOVA

Kedua pendekatan univariat (ANOVA) dan pendekatan multivariat (MANOVA) dapat digunakan untuk analisis ukuran berulang. Secara umum, analisis univariat lebih informatif dan interpretasinya lebih mudah, sedangkan

analisis multivariat memerlukan transformasi sederhana pada langkah-langkah berulang seperti pembentukan variabel berbeda urutan atau non sekuensial dan ini dapat membuat interpretasi menjadi lebih sulit. Oleh karena itu, jika ada perbedaan keseluruhan antara perlakuan atau kondisi akibat MANOVA, prosedur ANOVA dan post hoc univariat diterapkan untuk menemukan sumber perbedaan tersebut (Johnson dan Wichern, 1982).

Secara keseluruhan, setiap metode yang dijelaskan untuk uji disolusi terbanding adalah sesuai untuk digunakan. Namun secara umum, berdasarkan kebanyakan penelitian yang telah diamati menyatakan bahwa metode berbasis ANOVA dan model-dependen agak rumit dan lebih diskriminatif walaupun metode tersebut dapat memberikan informasi lebih banyak tentang profil disolusi sesuatu produk jika dibandingkan dengan *f-factors*. Untuk interpretasi yang lebih cepat, *f-factors* lebih mudah digunakan karena hanya satu nilai yang diperoleh untuk menggambarkan kesetaraan kedua profil disolusi obat tersebut.

Kesimpulan

Berdasarkan analisis dari metode-metode tersebut, dapat disimpulkan bahwa setiap metode memiliki karakteristik yang berbeda dalam mencari profil disolusi. Namun, metode yang paling mudah dan ringkas dalam mencari profil disolusi

adalah dengan menggunakan metode model-independen yaitu *f-factors*, di mana nilai faktor perbedaan (f_1) dan faktor persamaan (f_2) dapat dihitung dan dibandingkan dengan standar yang telah ditetapkan.

Daftar Pustaka

- Esimone C. O., Okoye F. B., et al. 2008. In Vitro Bioequivalence Study of Nine Brands of Artesunate Tablets Marketed in Nigeria. *J Vector Borne Dis.* 45(1):60-65.
- Badan POM RI. 2004. Pedoman Uji Bioekivalensi. Jakarta. hl 1-5.
- FDA. 1995. Guidance for Industry: Immediate Release Solid Oral Dosage Forms – Scale-up and Postapproval Changes: Chemistry, Manufacturing, and Controls; In Vitro Dissolution testing, and In Vivo Bioequivalence Documentation. Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, MD. November.
- FDA. 1997. Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, MD. August.
- FDA. 2000. Guidance for Industry: Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a

- Biopharmaceuticas Claasification Systems. U.S Department of Health Services, Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Rockville. pg 1-8.
- Gilbaldi, M., Feldman, S. 1967. Establishment of Sink Condition in Dissolution Rate Determinations. Theoretical Considerations and Application to Non-disintegrating Dosage Forms. *J. Oharms. Sci.* 56, 1238-1242.
- Higuchi T. 1963. Mechanism of Sustained-Action Medication: Theoretical Analysis of Rate of Release of Solid drug Dispersed in Solid Matrices. *J. Pharm. Sci.* 52, 1145-1149.
- Hixson, A.W., Crowell, J.H. 1931. Dependence of Reaction Velocity Upon Surface and Agitation I – Theoretical Consideration. *Ind. Eng. Chem.* 23, 923-931.
- Johnson, R.A., Wichern, D.W. 1982. Applied Multivariate Statistical Analysis. Prentice-Hall. Englewood Cliffs. NJ.
- Kanik, E.A. 1999. The Assumption of Equality of Population Covariance Matrices in MANOVA. Ph. D. Thesis, University of Ankara, Turkey.
- Mauger, J.W., Chilko, D., Horward, S. 1986. On the Analysis of the Dissolution Data. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 12, 969-992.
- Moore, J.W., Flanner, H.H. 1996. Mathematical Comparison of Dissolution Profiles. *Pharm. Technol.* June, 64-74.
- Pillay V. And Fassihi R. 1998. Evaluation and comparison of dissolution data derived from different modified release dosage forms: an alternative method. *J Control Release.* 55(1):45-55.
- Podczek, F. 1993. Comparison of In Vitro Dissolution Profiles by Calculating Mean Dissolution ime (MDT) or Mean Residence Time (MRT). *Int. J. Pharm.* 97, 93-100.
- Polli, J.e., Rekhi, G.S., Ausgburger, L.L., Shah, V.P. 1997. Methods to Compare Dissolution Profiles and a Rationale for Wide Dissolution Specifications for Metoprolol Tartrate Tablets. *J. Pharm. Sci.* 86, 690-700.
- Prior A., Frutos P. Frutos G., Torrado, Susana, Correa C. 2002. Estudio Comparativo de Ios Medicamentos Integrantes del Grupo Homogeneo ‘Allupurionol 300 mg 30 comprimidos’, V Spanish-Portuguese Conference on Controlled Drug Release. Abstract Book. 159-160.

- Sathe, P.M., Tsong Y., Shah, V.P. 1996. In Vitro Dissolution Profile Comparison: Statistic and Analysis, Model-dependent Approach. Pharm. Res. 13, 1799-1803.
- Shah, V.P., Lesko, L.J., Fan, J., Fleischer, N., Handerson, J., Malinowski, H., Makary, M., Ouderkirk, L., Roy, S., Sathe, P., Singh, G.J.P., Tillman, Tsong, Y., Williams, R.L. 1997. FDA Guidance for Industry: Dissolution Technol. 4, 15-22.
- Shah, V.P., Tsong, Y., Sathe, P., Liu, J., P. 1998. In Vitro Dissolution Profile Comparison – Statistics and Analysis of the Similarity Factor, f2. Pharm. Res. 15, 889-896