

PRAKATA

Tujuan asas garis panduan ini adalah untuk membantu mereka yang terlibat dalam analisis pengawalan kualiti ubat-ubatan dalam mewujudkan piawai rujukan sekunder dengan lebih sempurna. Prosidur-prosidur yang tergaris dalam panduan ini meliputi aspek-aspek persediaan, pengendalian, permiawaian, penyimpanan dan penggunaan piawai rujukan kimia dan piawai rujukan biologikal (antibiotik).

Penggunaan piawai rujukan yang sesuai merupakan satu ciri penting dalam Amalan Makmal Baik. Piawai rujukan primer seperti British Pharmacopoeia Chemical Reference Substances (BPCRS), International Chemical Reference (ICRS), United States Pharmacopoeia Reference Standards (USPRS) adalah terlalu mahal untuk digunakan dalam analisis harian. Oleh itu, piawai rujukan sekunder atau piawai kerja perlu disediakan dalam kuantiti yang mencukupi untuk kegunaan rutin.

Keputusan ujian esei yang tepat dan boleh diterima dengan yakinnya bergantung kepada kualiti dan ketulenan bahan piawai yang digunakan. Langkah-langkah yang sewajarnya perlu dilakukan untuk memastikan supaya bahan piawai yang digunakan untuk analisis pengawalan mutu ubat-ubatan adalah berkualiti, dipiawaikan dengan sempurna, dikendalikan, disimpan dan digunakan dengan betul.

**Unit Piawai Rujukan
Bahagian Analisis Ubat
Biro Pengawalan Farmaseutikal Kebangsaan
Email : ref_std@bpfk.gov.my**

Julai 2000

Cetakan pertama : Oktober 1993
ISBN 983 – 9870 – 10 –6

Semakan pertama : Julai 2000

**GARISPANDUAN PENYEDIAAN, PENGENDALIAN
PENYIMPANAN DAN PENGGUNAAN PIAWAI RUJUKAN KIMIA**

KANDUNGAN	MUKASURAT
1. Pengenalan	1
1.1. Definasi	1
1.2. Jenis Prosidur Analitikal	1
2. Bahan Mentah yang diperolehi	2
3. Kaedah Kimia dan Fizikal yang digunakan bagi mempiawai bahan rujukan	2
3.1. Kaedah yang digunakan untuk mengesahkan identiti bahan rujukan	2
3.2. Kaedah yang digunakan untuk menentukan ketulinan bahan rujukan dan kehadiran bendasing	3
4. Pengendalian dan penggunaan piawai rujukan	4
4.1. Pembungkusan, penyimpanan dan penjagaan....	4
4.2. Kestabilan dan penilaian semula	5
4.3. Dokumen yang mesti disertakan bersama piawai rujukan	5
5. Ringkasan	6
6. Rujukan	6

GARISPANDUAN PENYEDIAAN, PENGENDALIAN, PENYIMPANAN DAN PENGGUNAAN PIAWAI RUJUKAN KIMIA

1. PENGENALAN

1.1. Definisi

Bahan Piawai Rujukan Kimia boleh didefinisikan sebagai satu bahan yang bertujuan untuk digunakan dalam ujian kimia dan fizikal yang tertentu, di mana sifat-sifatnya dibandingkan dengan sifat-sifat contoh-contoh yang hendak diuji. Bahan tersebut juga mesti mempunyai darjah ketulian yang sesuai untuk kegunaannya.

1.2. Jenis prosedur analisis yang digunakan dalam spesifikasi keluaran dan bahan-bahan farmaseutik yang memerlukan bahan rujukan kimia :-

1.2.1. Spektrofotometri Inframerah untuk ujian identifikasi dan juga kuantitatif

1.2.2. Penyerapan Spektrofotometri Ultraungu untuk tujuan kuantitatif

1.2.3. Perbandingan warna dan intensiti sama ada menggunakan alat atau perbandingan tampak untuk tujuan kuantitatif

1.2.4. Kaedah kromatografik untuk tujuan identifikasi dan juga kuantitatif

1.2.5. Kaedah titrasi dan juga putaran optik untuk tujuan kuantitatif

1.2.6. Kaedah-kaedah kuantitatif (termasuk kaedah diautomasikan) berdasarkan teknik-teknik lain pemisahan bahan ditentukan antara fasa-fasa solven, di mana keberkesanan jitu pada prosedur ekstraksi mungkin bergantung pada keadaan sekeliling yang bertukar-tukar dari masa ke semasa dan dari makmal ke makmal.

1.2.7. Kaedah-kaedah yang mungkin perlukan piawai rujukan kimia mengandungi satu nisbah tetap komponen-komponen yang diketahui (contohnya, isomer-isomer *cis/trans* sampel-sampel 'spiked')

Selain daripada prosedur analisis di atas terdapat juga beberapa alat-alat makmal yang dikalibrasikan dengan menggunakan Piawai Rujukan seperti didimium atau penapis holmium oksida untuk kalibrasi (tentukur) jarak gelombang dan kalium dikromat atau kalium nitrat untuk kalibrasi daya serap bagi Spektrofotometri Ultraungu.

Oleh kerana ujian kawalan mutu melibatkan prosedur analisis yang tercatat di atas, penggunaan bahan rujukan amatlah penting. Adalah menjadi tanggungjawab makmal kawalan mutu tersebut untuk menyediakan piawai kerja atau piawai rujukan sekunder.

Piawai rujukan boleh dibahagikan kepada dua kategori iaitu piawai rujukan primer dan piawai rujukan sekunder. Satu bahan piawai rujukan sekunder adalah bahan yang ciri-cirinya diberikan dan/atau ditentukan dengan bandingan pada satu bahan piawai rujukan primer. Tahap pencirian dan pengujian suatu piawai rujukan sekunder mungkin kurang daripada suatu bahan piawai rujukan primer. Definasi ini boleh juga diguna bertukar ganti pada bahan-bahan diistilahkan sebagai “piawai rujukan kerja”.

Piawai rujukan primer boleh didapati dari sumber seperti :-

- a) British Pharmacopoeia Commission Laboratory
- b) WHO Collaborating Centre for Chemical Reference Substances
- c) The United States Pharmacopoeial Convention, Inc.
- d) European Department for the Quality of Medicines

2. **BAHAN MENTAH YANG DIPEROLEHI**

Kualiti bahan mentah yang digunakan untuk mewujudkan piawai rujukan bergantung kepada tujuan penggunaannya. Jika penggunaannya adalah untuk tujuan kuantitatif ketulinannya mestilah lebih tinggi dari tujuan penggunaan kualitatif.

Kuantiti yang secukupnya, sekurang-kurangnya untuk kegunaan 3-5 tahun mesti diperolehi dari sumber yang boleh dipercayai seperti pengilang utama bahan tersebut. Data analisa iaitu sijil analisis dari pembekal mesti disertakan bersama.

3. **KAEDAH KIMIA DAN FIZIKAL YANG DIGUNAKAN BAGI MEMPIAWAI BAHAN RUJUKAN**

Setelah bahan mentah yang sesuai diperolehi, ujian-ujian dari aspek identiti, ketulinan, kestabilan dan kesesuaian untuk tujuan penggunaan dijalankan.

Sampel yang mencukupi untuk ujian-ujian analisa sahaja dikeluarkan dari pembungkusan bahan mentah.

3.1. Kaedah yang digunakan untuk mengesahkan identiti bahan rujukan.

Kaedah yang berupaya mempamerkan sifat-sifat dua contoh yang ada persamaan lazimnya digunakan. Untuk tujuan ini, bandingan spektra penyerapan IR adalah memadai.

Selain dari IR, teknik yang lebih spesifik juga digunakan seperti ‘nuclear magnetic spectroscopy’, ‘mass spectrometry’ dan ‘X-ray diffraction crystallography’.

Ujian yang menggunakan kaedah UV spektrofotometri dan ujian-ujian tambahan yang lain mungkin diperlukan juga untuk mengesahkan identiti bahan tersebut.

- 3.2. Kaedah yang digunakan untuk menentukan ketulinan bahan rujukan dan kehadiran bendasing.

Keperluan ketulinan sesuatu bahan rujukan bergantung kepada tujuan penggunaannya. Bahan rujukan yang digunakan untuk tujuan esei mesti mempunyai ketulinan yang tinggi, 100% + /- 0.5% tulin adalah diperlukan, dihitung atas bahan dalam bentuk 'anhydrous' dan/atau bebas bahan-bahan meruap.

3.2.1. Kaedah Kromatografi

Kaedah ini amat berguna untuk menentukan sama ada bendasing terdapat dalam bahan rujukan. TLC, GC dan HPLC adalah tatacara yang sering digunakan. TLC lebih digunakan untuk tujuan kualitatif. Penggunaan GC dan HPLC adalah lebih berfaedah dari TLC kerana ia sesuai untuk tujuan kuantitatif.

3.2.2. Kaedah Spektrofotometri

Spektrofotometri ultraungu digunakan secara meluas untuk menentukan ketulinan sesuatu bahan rujukan.

3.2.3. Kaedah Pentitratan

Kaedah ini juga digunakan untuk menentukan ketulinan bahan rujukan. Jenis titrasi yang selalu digunakan ialah titrasi bukan akues.

3.2.4. Kaedah Putaran Optis

Untuk bahan rujukan yang aktif dari segi optik, kaedah putaran optis digunakan untuk tujuan kuantitatif.

3.2.5. Kaedah 'Differential Scanning Colorimetry'

Kegunaan kaedah ini adalah berpandukan penentuan 'heat of fusion' bahan tersebut. Dari perbezaan takat lebur kehadiran bendasing dapat ditentukan.

3.2.6. Lain-lain Kaedah

Lain-lain kaedah seperti analisis gravimetrik, elektroforesis, dan spektroskopi penyerapan atom juga digunakan untuk menentukan ketulinan.

Apa juga kaedah yang digunakan untuk mempiawai bahan rujukan, adalah perlu kandungan kelembapan dan kandungan pencemaran bahan meruap diambil kira juga. Kandungan kelembapan boleh dilakukan dengan cara pengeringan atau pun ditentukan dengan titrasi Karl Fisher. Kaedah GC boleh menentukan kandungan pencemaran bahan meruap.

4. **PENGENDALIAN DAN PENGGUNAAN PIAWAI RUJUKAN**

Cara-cara yang dilakukan dalam pengendalian dan penggunaan piawai rujukan mestilah memberi jaminan supaya keadaan asal dilindungi dan dikawal sepanjang masa penggunaan.

4.1. **Pembungkusan penyimpanan dan penjagaan**

Bekas yang digunakan mestilah berupaya melindungi piawai rujukan dari kelembapan, cahaya dan oksigen. Dari segi kestabilan, ampul gelas yang dimenterai adalah disyorkan. Perkara penting yang mesti diperhatikan ketika memilih bekas yang sesuai ialah penyerapan kelembapan ke dalam bekas. Langkah-langkah tambahan mungkin perlu untuk memastikan integriti dan kestabilan jangka panjang.

Pengisian piawai rujukan ke dalam bekas boleh dilakukan secara manual dan disyorkan dilakukan dalam 'glove box' yang ada kemudahan pembekalan nitrogen di mana kelembapan bandingan dikawal.

Secara teori, kestabilan bahan-bahan akan dipertingkatkan dengan menyimpan mereka pada suhu rendah. Akan tetapi, untuk bahan-bahan yang mengandungi air, penyimpanan di bawah 0°C boleh merosakan kestabilan. Perlu diingatkan kelembapan relatif dalam peti sejuk atau bilik sejuk mungkin tinggi. Oleh itu, melainkan ampul atau bekas lain ditutup kedap diguna, kesan peluluhan disebabkan penyerapan akan mengatasi imbalan yang didapati dari peningkatan kestabilan. Penyimpanan (penstoran) pada suhu +5 °C, dengan pengawasan terhadap pencegahan perkara kelembapan ini, telah terbukti memuaskan bagi kebanyakan bahan piawai rujukan kimia.

Penstoran dan penjagaan bekas-bekas piawai rujukan kimia yang belum dibuka/dipakai, mengikut maklumat yang diberi adalah mustahak untuk kesesuaian penggunaannya. Bagi mengelakkan kesangsian akan datang terhadap integriti bekas-bekas yang sudah dibuka pakai, adalah dicadangkan bakal pengguna memperoleh kuantiti bahan-bahan untuk kegunaan dalam masa terdekat dan mendapatkan stok baru (yang dalam keadaan jagaan terkawal) bila perlu. Penyimpanan bahan-bahan yang telah dibuka, pada suatu jangka masa lama perlu dielakkan. Usaha-usaha juga patut diambil bagi mengelak peluluhan berkemungkinan, pencemaran dan/atau kemasukan kelembapan semasa penggunaan bahan yang berulang-ulang.

4.2. Kestabilan dan penilaian semula

Adalah satu perkara penting kestabilan piawai rujukan dikawal dengan pemiawaian semula dan ini dilakukan supaya tindakan boleh diambil sekiranya sifat-sifat piawai rujukan telah bertukar dari sifat-sifat asalnya.

Penukaran sifat : contohnya terbentuk hasil-hasil peluluan dalam peratus yang kecil tidak menjejaskan kegunaan piawai rujukan untuk identifikasi IR tetapi akan menjejaskan ujian esei menggunakan kaedah HPLC atau GC. Pemiawaian semula disyorkan dalam jangkamasa tiga tahun.

4.3. Dokumen yang mesti disertakan bersama piawai rujukan

Dua aspek penting yang perlu diambil perhatian bersama piawai rujukan ialah label dan sijil analisa.

4.3.1. Maklumat yang perlu dinyatakan di label piawai rujukan ialah :-

- (a) Nama piawai rujukan :
- (b) Nombor Kumpulan atau Kawalan:
- (c) Anggaran kuantiti piawai rujukan dalam bekas ;
- (d) Ketulinan dalam bentuk peratus :

4.3.2. Sijil analisa mestilah mengandungi maklumat seperti :-

- (a) Nama piawai rujukan :
- (b) Nombor Kumpulan atau Kawalan:
- (c) Deskripsi tentang rupabentuk fizikal piawai rujukan. Ujian-ujian yang dilakukan bersama dengan keputusannya terutama ujian-ujian di mana maklumatnya dihendaki dalam pengiraan ujian :
- (d) Tujuan kegunaan piawai rujukan :
- (e) Cara penggunaan (contohnya arahan tentang pengeringan sebelum digunakan) :
- (f) Cara penyimpanan diperlukan untuk kestabilan:

5. **RINGKASAN**

Semua piawai rujukan yang digunakan di makmal kawalan mutu mestilah dikendalikan oleh seorang yang bertanggungjawab, di mana beliau mesti mewujudkan rekod pusat untuk bahan-bahan ini. Piawai rujukan yang direkodkan mestilah mengandungi maklumat yang di antaranya termasuk :-

- (a) Nama piawai rujukan :
- (b) Nombor pengenalan (Kod No.) :
- (c) Sumber diperolehi :
- (d) Nombor kumpulan :
- (e) Tujuan penggunaan :
- (f) Tempat ia disimpan :
- (g) Cara penyimpanan :

Nombor pengenalan mestilah dilabelkan di tiap-tiap vial piawai rujukan dan nombor ini mestilah dituliskan di kertas kerja analisa apabila bahan ini digunakan.

Pegawai yang bertanggungjawab mengendalikan piawai rujukan ini juga disyorkan menyimpan fail untuk tiap-tiap piawai rujukan yang ada. Maklumat yang boleh difailkan termasuklah ringkasan ke atas semua ujian dan pemiawaian yang dilakukan untuk menyediakan piawai rujukan tersebut, juga keputusan ujian atau sijil analisa dan nama penganalisa yang menilai piawai rujukan tersebut.

Pegawai yang bertanggungjawab juga perlu sentiasa memeriksa keadaan penyimpanan untuk menentukan yang piawai rujukan disimpan dengan sempurna agar ia tidak mengalami kerosakan.

6. **RUJUKAN**

- 6.1 British pharmacopoeia 1988, A 146.
- 6.2 WHO Expert Committee on Biological Standardisation, 37th report. Technical Report Series 760, WHO Geneva, 1987.
- 6.3 Draft Guidelines for Collaborative Assays. National Biological Standards Laboratory, Australia.
- 6.4 Int. biological standards and reference preparations. Journal of Biol. Standardisation 1974, 2, 249 – 258.
- 6.5 World Health Organisation. WHO Technical Report Series, No. 885, 1999.