



PT. PHAROS INDONESIA

Nomor Metoda Analisa Bahan Baku : AD.BB.01.018249.01

Judul Metoda Analisa Bahan Baku : Cyanocobalamin

Tanggal Berlaku : 13 OCT 2023

Nomor Metoda Analisa Bahan Baku : AD.BB.01.018249.00
Edisi Sebelumnya

Tanggal Berlaku Edisi Sebelumnya : 16 Juli 2020

Jumlah Halaman : 08 Halaman (diluar halaman lembar pengesahan ini)

Referensi :

1. FI VI, Hal. 1591-1593, 2020, Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan, Kementerian Kesehatan, RI, Jakarta.
2. Suplemen I Farmakope Indonesia VI, Hal 291, 2022, Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan, Kementerian Kesehatan, RI, Jakarta.
3. *Internal Procedures.*

Pengesahan Dokumen

	Nama	Jabatan	Tanda Tangan	Tanggal
Disusun Oleh	Lince Mardiyanti	AD Staff		10/10/23
	Cahya Krisanti	Micro Staff		11/10/23
Diperiksa Oleh	Asep Mulyadi	AD Manager		11/10/23
	Siswati Ika Daliana	QC Manager		12/10/23
Disahkan Oleh	Elsy Nurhayati S.	QA Manager		13/10/23

SEJARAH PERUBAHAN

No. Dokumen	Alasan Perubahan
AD.BB.01.018249.00	– Perubahan format dan penomoran dokumen. – Perubahan metode kadar analisa mengacu pada monograph “Cyanocobalamin” dalam USP 42
AD.BB.01.018249.01	– Penambahan spesifikasi identifikasi Reaksi Kimia dan HPLC, serta spesifikasi cemaran organik serta penghapusan parameter endotoksin menyesuaikan dengan FI VI 2020 – Menambahkan parameter cemaran mikrobiologi menyesuaikan dengan pengujian mikrobiologi sediaan nonsteril: kriteria keberterimaan sediaan dan bahan baku untuk penggunaan farmasi dalam suplemen I FI VI 2022 serta sesuai dengan KP No. 122/KP/VIII/23.

Catatan Khusus :

Metode analisa ini dapat digunakan untuk kode bahan baku berikut ini :

1. Cyanocobalamin

018249



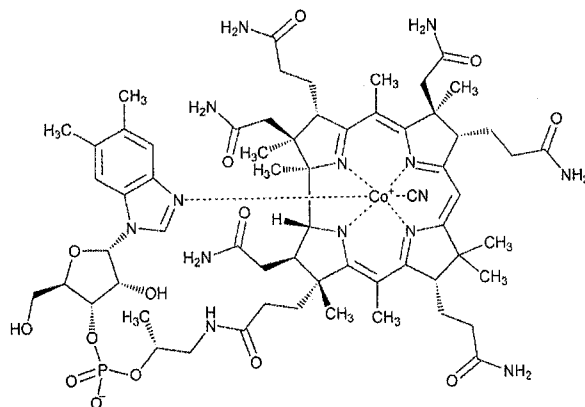
13 OCT 2023

1. TUJUAN

Sebagai acuan dalam melakukan pemeriksaan Bahan Baku sehingga mengurangi kelalaian maupun kesalahan dalam bekerja.

2. PENANGGUNG JAWAB

- 2.1 *Staff dan Supervisor Departemen Analytical Development dan Quality Control*, bertanggung jawab dalam melaksanakan metode analisa ini.
- 2.2 *Manager Departement Analytical Development dan Quality Control* bertanggung jawab atas pelaksanaan metode analisa ini.

3. TATA LAKSANA**3.1 RUMUS MOLEKUL ¹** $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$

BM 1355,37

3.2 SINONIM*Vitamin B₁₂***3.3 PEMERIKSAAN PARAMETER FISIKA DAN KIMIA****3.3.1 Pemeriksaan Pemerian ³**

1. Pindahkan 1,0 g sampel ke dalam cawan petri.
2. Periksa pemerian sampel, bandingkan dengan pembanding.

Syarat ²: Sampel harus berupa hablur atau amorf merah tua atau serbuk hablur merah. Berbentuk anhidrat sangat higroskopis. Jika terpapar udara menyerap air $\pm$ 12%.



METODA ANALISA BAHAN BAKU

CYANOCOBALAMIN

No : AD.BB.01.018249.01

Tanggal Berlaku :

13 OCT 2023

Mengganti No:AD.BB.01.018249.00
Tgl: 16 Juli 2020

Hal 2 dari 8

3.3.2 Pemeriksaan Identifikasi

3.3.2.1 Metode Spektrofotometri UV-Vis¹

Sistem Spektrofotometri UV-Vis

Lakukan scanning absorban larutan sampel pada kondisi :

Panjang gelombang: 200 - 700 nm

Sel kwartz : 1 cm

Blanko : *Purified water***Catatan :** Gunakan sampel dan blanko yang digunakan pada penetapan kadar.

Lakukan pengukuran serapan pada panjang gelombang.

Syarat¹ : (1) Larutan sampel memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 278 ± 1 nm, 361 ± 1 nm dan 550 ± 2 nm.

(2) Perbandingan serapan pada panjang gelombang 361 dan 278 adalah 1,70 – 1,90.

(3) Perbandingan serapan pada panjang gelombang 361 dan 550 nm adalah 3,15 – 3,40.

3.3.2.2 Metode Reaksi Kimia¹

1. Timbang 1 mg sampel dan 50 mg kalium piro-sulfat P, dimasukkan ke dalam krus porselen.

2. Lebur keduanya.

3. Dinginkan, aduk dengan batang pengaduk kaca.

4. Tambahkan 3 mL *purified water*, didihkan hingga larut.

5. Tambahkan 1 tetes fenolftalein LP dan tambahkan larutan natrium NaOH P 100 mg/mL tetes demi tetes sampai merah muda.

6. Tambahkan 500 mg natrium asetat P, 0,5 mL asam asetat 1 N, dan 0,5 mL larutan garam nitroso R 2 mg per mL (1)

7. Tambahkan 0,5 mL asam hidroklorida P, dan didihkan selama 1 menit (2)

Syarat¹ : (1) Terjadi warna merah atau merah jingga.

(2) Warna merah tetap



METODA ANALISA BAHAN BAKU

CYANOCOBALAMIN

No : AD.BB.01.018249.01

Tanggal Berlaku :

13 OCT 2023

Mengganti No:AD.BB.01.018249.00
Tgl: 16 Juli 2020

Hal 3 dari 8

3.3.2.3 Metode HPLC¹

Catatan : Gunakan fase gerak dan sistem kromatografi seperti pada cemaran organik.

Catatan: Gunakan dalam waktu 1 jam.

Pembuatan Larutan Sampel

1. Timbang 25 mg sampel, masukkan ke dalam labu ukur 50 mL.
2. Larutkan dan encerkan dengan fase gerak hingga tanda batas, kocok homogen.
3. Pipet 1 mL larutan, masukkan ke dalam labu ukur 10 mL.
4. Encerkan dengan fase gerak hingga tanda batas, kocok homogen.

Pembuatan Larutan Standar

1. Timbang 25 mg cyanocobalamin standar, masukkan ke dalam labu ukur 50 mL.
2. Larutkan dan encerkan dengan fase gerak hingga tanda batas, kocok homogen.
3. Pipet 1 mL larutan, masukkan ke dalam labu ukur 10 mL.
4. Encerkan dengan fase gerak hingga tanda batas, kocok homogen.

Syarat¹ : Waktu retensi puncak utama larutan sampel sesuai dengan larutan standar.

3.3.3 Pemeriksaan Kelarutan¹3.3.3.1 *Purified Water*¹

Masukkan 1,0 g sampel dalam tabung reaksi 10 mL. *Add 3 mL purified water.* Kocok kuat. Amati larutan.

Syarat¹ : Sampel agak sukar larut dalam *purified water*.

3.3.3.2 Etanol¹

Masukkan 1,0 g sampel dalam tabung reaksi 10 mL. *Add 10 mL etanol.* Kocok kuat. Amati larutan.

Syarat¹ : Sampel larut dalam etanol.

3.3.3.3 Aseton¹

Masukkan 1,0 g sampel dalam tabung reaksi 10 mL. *Add 10 mL Aseton.* Kocok kuat. Amati larutan.

Syarat¹ : Sampel tidak larut dalam aseton.

3.3.3.4 Kloroform¹

Masukkan 1,0 g sampel dalam tabung reaksi 10 mL. *Add 10 mL kloroform.* Kocok kuat. Amati larutan.

Syarat¹ : Sampel tidak larut dalam kloroform.



METODA ANALISA BAHAN BAKU

CYANOCOBALAMIN

No : AD.BB.01.018249.01

Tanggal Berlaku :

13 OCT 2023

Mengganti No:AD.BB.01.018249.00
Tgl: 16 Juli 2020

Hal 4 dari 8

3.3.3.5 Eter¹

Masukkan 1,0 g sampel dalam tabung reaksi 10 mL. Add 10 mL eter. Kocok kuat. Amati larutan.

Syarat¹ : Sampel tidak larut dalam eter.

3.3.4 Pemeriksaan Susut Pengeringan¹

1. Lakukan penetapan bobot tetap pada wadah botol timbang.
2. Timbang seksama 25 g sampel pada wadah botol timbang yang telah dibobottetapkan.
3. Masukkan botol timbang ke dalam desikator.
4. Keringkan dengan oven pada suhu 105 °C, selama 2 jam.
5. Setelah pengeringan 18 jam, angkat desikator dan hampakan udara selama 15 menit.
6. Biarkan sampel dingin dalam desikator.
7. Hitung presentase susut pengeringan dengan menggunakan rumus :

$$\text{Susut Pengeringan (\%)} = \frac{b - a}{b} \times 100\%$$

Keterangan :

a : Bobot sampel setelah pengeringan (mg)

b : Bobot sampel sebelum pengeringan (mg)

Syarat¹ : ≤ 12,0 %

3.3.5 Pemeriksaan Cemarkan Organik¹Metode HPLC¹

Sistem Kromatografi

Alat : HPLC
 Kolom : L7; 4,6 mm x 25 cm (5 µm)
 Fase gerak : Metanol P : Larutan A (26,5 : 73,5) pH 3,5
 Kecepatan aliran : 0,8 mL/menit
 Detektor : 361 nm
 Volume Injek : 20 µL

Pembuatan Larutan Kesesuaian Sistem

1. Timbang 25 mg sampel, masukkan ke dalam labu ukur 25 mL.
2. Tambahkan 10 mL *purified water*, hangatkan jika perlu.
3. Biarkan dingin, tambahkan 5 mL larutan natrium tosilkloramida P 1 g/L dan 0,5 mL HCl 0,05 N.



METODA ANALISA BAHAN BAKU

CYANOCOBALAMIN

No : AD.BB.01.018249.01

Tanggal Berlaku :

13 OCT 2023

Mengganti No:AD.BB.01.018249.00
Tgl: 16 Juli 2020

Hal 5 dari 8

4. Encerkan dengan *purified water* hingga tanda batas, kocok homogen dan diamkan selama 5 menit.
5. Pipet 1 mL larutan ini, masukkan ke dalam labu ukur 10 mL.
6. Encerkan dengan fase gerak hingga tanda batas.
7. Suntikkan segera.

Pembuatan Larutan Batas Kuantitatif

1. Timbang 20 mg sampel, masukkan ke dalam labu ukur 20 mL.
2. Larutkan dengan fase gerak hingga tanda batas, kocok homogen.
3. Pipet 2 mL larutan, masukkan ke dalam labu ukur 20 mL.
4. Encerkan dengan fase gerak hingga tanda batas, kocok homogen.
5. Pipet 1 mL larutan, masukkan ke dalam labu ukur 100 mL.
6. Encerkan dengan fase gerak hingga tanda batas, kocok homogen.

Pembuatan Larutan Sampel

1. Timbang sampel sebanyak 20,0 mg, masukkan ke dalam labu ukur 20 mL.
2. Larutkan dan encerkan dengan fase gerak hingga tanda batas, kocok homogen.

Catatan: Gunakan larutan selama 1 jam.**Prosedur**

Suntikkan secara terpisah larutan standar dan larutan sampel.

Lakukan uji kesesuaian sistem dengan syarat:

- Resolusi, R, antara sianokobalamin dan 7β,8β-laktosianokobalamin $\geq 2,5$

Perhitungan:

$$\frac{r_i}{r_T} \times 100$$

Keterangan: r_i : respon puncak masing-masing cemaran dari larutan sampel r_T : jumlah respon puncak dari larutan sampel**Syarat¹:**

Nama	Waktu Retensi Relatif	Batas (%)
Sianokobalamin	1,0	-
7β,8β-laktosianokobalamin	1,2	1,0
50-karboksisianokobalamin	1,4	0,5
34-metilsianokobalamin	1,5	2,0



METODA ANALISA BAHAN BAKU

CYANOCOBALAMIN

No : AD.BB.01.018249.01

Tanggal Berlaku :

13 OCT 2023

Mengganti No:AD.BB.01.018249.00
Tgl: 16 Juli 2020

Hal 6 dari 8

Nama	Waktu Retensi Relatif	Batas (%)
32-karboksisianokobalamin	1,6	1,0
8-epi-sianokobalamin	2,5	1,0
Cemaran tidak diketahui	-	0,5
Total cemaran	-	3,0

3.3.6 Pemeriksaan Kadar¹Metode Spektrofotometri UV-Vis¹

Sistem Spektrofotometri UV-Vis

Lakukan scanning absorban larutan sampel pada kondisi :

Panjang gelombang : ± 361 nm

Sel kwartz : 1 cm

Blanko : *Purified water*

Pembuatan Larutan Sampel

1. Timbang sebanyak 60 mg sampel, masukkan ke dalam labu ukur 100 mL.
2. Larutkan dan encerkan dengan *purified water* hingga tanda batas, kocok homogen.
3. Pipet 2 mL larutan, masukkan ke dalam labu ukur 20 mL.
4. Encerkan dengan *purified water* hingga tanda batas, kocok homogen.

Prosedur

Ukur serapan larutan sampel pada panjang gelombang maksimum menggunakan *purified water* sebagai blanko.

Perhitungan:

$$\frac{A_U}{A_S \times C_U}$$

Keterangan:

Au : absorbansi larutan sampel

As : absorbansi jenis (E^{1%}) sianokobalamin (100 mL.g⁻¹. cm⁻¹)

Cu : Kadar sianokobalamin dalam sampel (g/mL)

Syarat¹ : 96,0 – 102,0 % C₆₃H₈₈CoN₁₄O₁₄P dihitung terhadap zat kering.

PT. PHAROS INDONESIA  Metode Analisa (MoA)	METODA ANALISA BAHAN BAKU CYANOCOBALAMIN	No : AD.BB.01.018249.01 Tanggal Berlaku : 13 OCT 2023 Mengganti No:AD.BB.01.018249.00 Tgl: 16 Juli 2020 Hal 7 dari 8
3.3.7 Pemeriksaan Cemarkan Mikrobiologi 3.3.7.1 Pemeriksaan Angka Lempeng Total ² Pemeriksaan Angka Lempeng Total prosedur pemeriksaan mengacu pada protap dengan nomor P-QC-257. Syarat ²: ≤ 1000 CFU/g 3.3.7.2 Pemeriksaan Angka Kapang dan Khamir ² Pemeriksaan mikrobiologi yang dilakukan adalah Angka Kapang dan Khamir prosedur pemeriksaan mengacu pada protap dengan nomor P-QC-257. Syarat ²: ≤ 100 CFU/g 4. PENYIMPANAN BAHAN BAKU DAN KEMASAN Simpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung dari cahaya. 5. CARA PEMBUATAN LARUTAN 5.1 Fenolftalin LP Timbang seksama 1,0 gram fenolftalin masukkan ke dalam labu ukur 100 ml. Larutkan dan encerkan dengan etanol 96%) sampai tanda batas. Kocok homogen. 5.2 HCl 0,05 N Encerkan 4,1 ml HCl pekat ke dalam sejumlah volume aqua demineralisata di dalam labu ukur 1000 ml secara hati-hati hingga diperoleh 1000,0 ml larutan. Aduk homogen. 5.3 Bobot tetap wadah untuk susut pengeringan Keringkan botol timbang tutup dangkal di dalam oven pada suhu 110°C selama 30 menit. Dinginkan dalam desikator. Timbang. Lanjutkan pengeringan wadah hingga perbedaan dua kali penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,2 mg per wadah. 5.4 Larutan A Buat larutan dinatrium hidrogen fosfat P dengan kadar 10 g per Liter. 5.5 Fase gerak Buat campuran metanol P-Larutan A (26,5:73,5), atur pH hingga 3,5 dengan penambahan asam fosfat P. Saring dan awaudarakan. 6. KETERANGAN -		

PT. PHAROS INDONESIA



Metode Analisa
(MoA)

METODA ANALISA BAHAN BAKU

CYANOCOBALAMIN

No : AD.BB.01.018249.01

Tanggal Berlaku :

13 OCT 2023

Mengganti No:AD.BB.01.018249.00
Tgl: 16 Juli 2020

Hal 8 dari 8

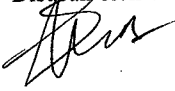
7. JADWAL PENILAIAN KEMBALI

Metoda analisa ditinjau setiap 3 tahun, jika ada perubahan *new version* dari acuan monografi namun tidak ada perubahan isi maka cukup ditambahkan *addendum* yang berisi hasil *review* tidak ada perubahan tersebut.

8. DISTRIBUSI

No.	DEPARTEMEN
1	AD PT. Pharos Indonesia
2	QC PT. Pharos Indonesia

----- 9. AKHIR DARI METODA ANALISA INI -----

PT. PHAROS INDONESIA  Pharos	Spesifikasi Bahan Baku CYANOCOBALAMIN		No. : SBB.01.018249.01 Tanggal Berlaku : 13 OCT 2023 Mengganti : SBB.01.018249.00 Tgl : 16 Juli 2020
Disusun oleh /Tgl  (Lince Mardiyanti) Analytical Development Staff	Disetujui oleh /Tgl  (Asep Mulyadi) Analytical Development Manager	Hal 1 dari 2	
1. PUSTAKA 1. FI VI, Hal. 1591-1593, 2020, Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan, Kementerian Kesehatan, RI, Jakarta. 2. Suplemen I Farmakope Indonesia VI, Hal 291, 2022, Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan, Kementerian Kesehatan, RI, Jakarta.			
2. SPESIFIKASI BAHAN BAKU			
Jenis Pengujian	Satuan	Persyaratan	Acuan Metode Analisa
Pemerian ¹	-	Sampel harus berupa hablur atau amorf merah tua atau serbuk hablur merah. Berbentuk anhidrat sangat higroskopis. Jika terpapar udara menyerap air $\pm 12\%$.	AD.BB.01.018249.01
Identifikasi a. Metode Spektrofotometri UV-Vis ¹ b. Metode Reaksi Kimia ¹ c. Metode HPLC ¹	-	a. (1) Larutan sampel memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 278 ± 1 nm, 361 ± 1 nm dan 550 ± 2 nm. (2) Perbandingan serapan pada panjang gelombang 361 dan 278 adalah 1,70 – 1,90. (3) Perbandingan serapan pada panjang gelombang 361 dan 550 nm adalah 3,15 – 3,40. b. (1) Terjadi warna merah atau merah jingga. (2) Warna merah tetap c. Waktu retensi puncak utama larutan sampel sesuai dengan larutan standar.	AD.BB.01.018249.01
Kelarutan a. Purified water ¹ b. Etanol ¹ c. Aseton ¹ d. Kloroform ¹ e. Eter ¹	-	a. Sampel agak sukar larut dalam purified water b. Sampel larut dalam etanol. c. Sampel tidak larut dalam aseton. d. Sampel tidak larut dalam kloroform. e. Sampel tidak larut dalam eter	AD.BB.01.018249.01

PT. PHAROS INDONESIA  Pharos	Spesifikasi Bahan Baku CYANOCOBALAMIN		No. : SBB.01.018249.01 Tanggal Berlaku : 13 OCT 2023 Mengganti : SBB.01.018249.00 Tgl : 16 Juli 2020
Disusun oleh /Tgl  (Lince Mardiyanti) Analytical Development Staff	Disetujui oleh /Tgl  (Asep Mulyadi) Analytical Development Manager	Hal 2 dari 2	
Jenis Pengujian	Satuan	Persyaratan	Acuan Metode Analisa
Susut Pengeringan ¹	%	$\leq 12,0$	AD.BB.01.018249.01
Cemaran Organik: a. Sianokobalamin ¹ b. 7 β ,8 β -laktosianokobalamin ¹ c. 50-karboksisianokobalamin ¹ d. 34-metilsianokobalamin ¹ e. 32-karboksisianokobalamin ¹ f. 8-epi-sianokobalamin ¹ g. Cemaran tidak diketahui ¹ h. Total cemaran ¹	%	a. - b. $\leq 1,0$ c. $\leq 0,5$ d. $\leq 2,0$ e. $\leq 1,0$ f. $\leq 1,0$ g. $\leq 0,5$ h. $\leq 3,0$	AD.BB.01.018249.01
Kadar ¹	%	96,0 – 102,0 % C ₆₃ H ₈₈ CoN ₁₄ O ₁₄ P dihitung terhadap zat kering.	AD.BB.01.018249.01
Cemaran Mikrobiologi : a. Angka Lempeng Total ² b. Angka Kapang dan Khamir ²	CFU/g	a. ≤ 1000 b. ≤ 100	P-QC-257
3. RIWAYAT PERUBAHAN			
No. Dokumen	Perubahan		
SBB.01.018249.00	– Perubahan format dan penomoran dokumen. – Perubahan metode kadar analisa mengacu pada monograph “Cyanocobalamin” dalam USP 42		
SBB.01.018249.01	– Penambahan spesifikasi identifikasi Reaksi Kimia dan HPLC, serta spesifikasi cemaran organik serta penghapusan parameter endotoksin menyesuaikan dengan FI VI 2020 – Menambahkan parameter cemaran mikrobiologi menyesuaikan dengan pengujian mikrobiologi sediaan nonsteril: kriteria keberterimaan sediaan dan bahan baku untuk penggunaan farmasi dalam suplemen I FI VI 2022 serta sesuai dengan KP No. 122/KP/VIII/23.		

 PT PHAROS INDONESIA	LAPORAN PEMERIKSAAN BAHAN BAKU CYANOCOBALAMIN		No: LBB.01.018249.01
			Tgl berlaku : 13 OCT 2023
			Mengganti : LBB.01.018249.00 Tgl berlaku : 16 Juli 2020
			Hal 1 dari 2

Nama Etiket : <i>Manufacturer</i> : <i>Supplier</i> : No. <i>Batch/Lot</i> : Keadaan kemasan : <i>Reassay Date</i> : <i>Exp. Date</i> :	Jumlah Diterima : Jumlah wadah yang disampling : Jumlah Sampling : No. LPB : Tgl LPB : No. Analisa : No. LSA : Tgl LSA : Storage :
---	--

No.	JENIS PEMERIKSAAN	HASIL	SYARAT
1.	Pemerian ¹		Sampel harus berupa hablur atau amorf merah tua atau serbuk hablur merah. Berbentuk anhidrat sangat higroskopis. Jika terpapar udara menyerap air $\pm 12\%$.
2	Identifikasi : a. Metode Spektrofotometri UV-Vis ¹ b. Metode Reaksi Kimia ¹ c. Metode HPLC ¹	a. b. c.	a. (1) Larutan sampel memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 278 ± 1 nm, 361 ± 1 nm dan 550 ± 2 nm. (2) Perbandingan serapan pada panjang gelombang 361 dan 278 adalah 1,70 – 1,90. (3) Perbandingan serapan pada panjang gelombang 361 dan 550 nm adalah 3,15 – 3,40. b. (1) Terjadi warna merah atau merah jingga. (2) Warna merah tetap c. Waktu retensi puncak utama larutan sampel sesuai dengan larutan standar.
3.	Kelarutan a. <i>Purified water</i> ¹ b. Etanol ¹ c. Aseton ¹ d. Kloroform ¹ e. Eter ¹	a. b. c. d. e.	a. Sampel agak sukar larut dalam <i>purified water</i> b. Sampel larut dalam etanol. c. Sampel tidak larut dalam aseton. d. Sampel tidak larut dalam kloroform. e. Sampel tidak larut dalam eter



PT PHAROS INDONESIA

LAPORAN PEMERIKSAAN BAHAN BAKU

CYANOCOBALAMIN

No: LBB.01.018249.01

Tgl berlaku :

13 OCT 2023

Mengganti : LBB.01.018249.00

Tgl berlaku : 16 Juli 2020

Hal 2 dari 2

No.	JENIS PEMERIKSAAN	HASIL	SYARAT
4.	Susut Pengeringan ¹	%	≤ 12,0 %
5.	Cemaran Organik: a. Sianokobalamin ¹ b. 7β,8β-laktosianokobalamin ¹ c. 50-karboksisianokobalamin ¹ d. 34-metilsianokobalamin ¹ e. 32-karboksisianokobalamin ¹ f. 8-epi-sianokobalamin ¹ g. Cemaran tidak diketahui ¹ h. Total cemaran ¹	a. % b. % c. % d. % e. % f. % g. % h. %	a. - b. ≤ 1,0 % c. ≤ 0,5 % d. ≤ 2,0 % e. ≤ 1,0 % f. ≤ 1,0 % g. ≤ 0,5 % h. ≤ 3,0 %
6.	Kadar ¹	%	96,0 – 102,0 % C ₆₃ H ₈₈ CoN ₁₄ O ₁₄ P ^P dihitung terhadap zat kering.
7.	Cemaran Mikrobiologi : a. Angka Lempeng Total ² b. Angka Kapang dan Khamir ²	a. CFU/g b. CFU/g	a. ≤ 1000 CFU/g b. ≤ 100 CFU/g

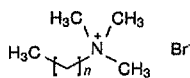
Catatan:

PUSTAKA

1. FI VI, Hal. 1591-1593, 2020, Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan, Kementerian Kesehatan, RI, Jakarta.
2. Suplemen I Farmakope Indonesia, Hal 291, 2022, Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan, Kementerian Kesehatan, RI, Jakarta.

SAMPLER	ANALIS	DITERIMA / DITOLAK
Nama :	Nama :	Nama :
Paraf :	Paraf :	Paraf :
Tgl :	Tgl :	Tgl :

SETRIMIDA Cetrimide



Setrimida [505-86-2]
C₁₇H₃₈BrN

BM 336,4

Setrimida terdiri dari trimetiltetradesilamonium bromida dan boleh mengandung sejumlah kecil dodesil dan heksadesil-trimetilamonium bromida. Setrimida mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 101,0% alkiltrimetilamonium bromida dihitung sebagai, C₁₇H₃₈BrN, terhadap zat kering.

Pemerian Serbuk, putih atau hampir putih; voluminus; mengalir bebas; agak berbau dan khas.

Kelarutan Larutan dalam 2 bagian air; mudah larut dalam etanol dan dalam kloroform; praktis tidak larut dalam eter.

Identifikasi

A. Serapan larutan 250 mg dalam 25 mL *etanol P* pada panjang gelombang antara 260 nm dan 280 nm tidak lebih dari 0,05.

B. Larutkan 5 mg dalam 5 mL *dapar fosfat pH 8*, tambahkan sepotong *kertas hijau metil-raksa(II) iodida P*; setelah 5 menit warna biru kehijauan larutan lebih intensif dari pada warna larutan blanko yang diperlakukan sama.

C. Menunjukkan reaksi *Bromida cara B* seperti tertera pada *Uji Identifikasi Umum <291>*.

D. Larutan 2,0% dalam *air bebas karbon dioksida P* (Larutkan A); terbentuk busa yang banyak pada pengocokan.

Keasaman-kebasaan Pada 50 mL *Larutan A* tambahkan 0,1 mL *ungu bromokresol LP*; tidak lebih dari 0,1 mL *asam hidroklorida 0,1 N LV* atau *natrium hidroksida 0,1 N LV* yang diperlukan untuk mengubah warna larutan.

Kerjenihan larutan <881> *Harus jernih*; lakukan penetapan menggunakan *larutan A* yang diperoleh dari *Identifikasi*.

Warna dan Akromisitas <1291> *Metode III Larutan A* tidak berwarna.

Amina non kuarternar Larutkan 5 g dalam 30 mL campuran *metanol P-asamklorida 1 N (99:1)*, tambahkan 100 mL *isopropanol P*. Alirkan perlahan-lahan *nitrogen P* melalui larutan dan titrasi secara potensiometrik dengan *tetrabutilamonium hidroksida 0,1 M LV* sampai sebanyak 15,0 mL. Jika diamati adanya dua infleksi maka volume larutan titer yang

ditambahkan diantara dua titik infleksi tidak lebih dari 2,0 mL.

Susut pengeringan <1121> Tidak lebih dari 2,0%; lakukan pengeringan pada suhu antara 100° sampai 105° selama 2 jam, menggunakan 1 g.

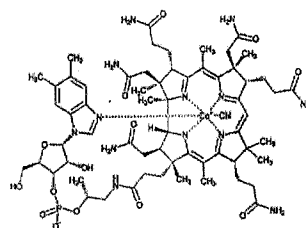
Sisa pemijaran <301> *Metode II* Tidak lebih dari 0,5%; lakukan penetapan menggunakan 1 g

Penetapan kadar Timbang seksama lebih kurang 2 g zat, larutkan dalam air secukupnya hingga 100 mL. Pipet 25 mL ke dalam corong pisah, tambahkan 25 mL *kloroform P*, 10 mL *natrium hidroksida 0,1 N* dan 10,0 mL larutan segar *kalium iodida P 5,0%*. Kocok, biarkan memisah dan buang lapisan kloroform. Cuci lapisan air tiga kali, tiap kali dengan 10 mL *kloroform P* dan buang kloroform. Tambahkan 40 mL *asam hidroklorida P*, dinginkan dan titrasi dengan *kalium iodat 0,05 M LV* sampai warna coklat tua hampir hilang. Tambahkan 2 mL *kloroform P* dan lanjutkan titrasi dengan pengocokan sampai lapisan kloroform tidak berubah warna. Lakukan penetapan blanko terhadap campuran 10,0 mL larutan segar *kalium iodida P*, 20 mL air dan 40 mL *asam hidroklorida P*. Perbedaan pada titrasi menunjukkan jumlah kalium iodat yang diperlukan.

Tiap mL kalium iodat 0,05 M
setara dengan 33,64 mg C₁₇H₃₈BrN

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup baik.

SIANOKOBALAMIN Vitamin B₁₂ Cyanocobalamin



Vitamin B₁₂ [68-19-9]
C₆₃H₈₈CoN₁₄O₁₄P

BM 1355,37

Sianokobalamin mengandung tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 102,0% C₆₃H₈₈CoN₁₄O₁₄P, dihitung terhadap zat kering.

Pemerian Hablur atau amorf merah tua atau serbuk hablur merah. Bentuk anhidrat sangat higroskopis. Jika terpapar udara menyerap air lebih kurang 12%.

Kelarutan Agak sukar larut dalam air; larut dalam etanol; tidak larut dalam aseton, dalam kloroform dan dalam eter.

Baku pembanding *Sianokobalamin BPFI*; tidak boleh dikeringkan. Simpan dalam wadah terlindung cahaya dalam lemari pendingin. Bersifat higroskopis. Buang sisa setelah digunakan.

Identifikasi

A. Spektrum serapan ultraviolet larutan yang diperoleh pada *Penetapan kadar* yang diukur pada panjang gelombang 200 nm – 700 nm menunjukkan maksimum pada panjang gelombang lebih kurang 278 nm ± 1 nm, 361 nm ± 1 nm dan 550 nm ± 2 nm. Perbandingan serapan pada panjang gelombang 361 nm dan 278 nm antara 1,70 dan 1,90; dan perbandingan serapan pada panjang gelombang 361 nm dan 550 nm antara 3,15 dan 3,40.

B. Lebur lebih kurang 1 mg zat dengan lebih kurang 50 mg *kalium piro-sulfat P* dalam krus porselen. Dinginkan, aduk dengan batang pengaduk kaca, tambahkan 3 mL air, dididihkan hingga larut. Tambahkan 1 tetes *fenolfalein LP* dan tambahkan larutan *natrium hidroksida P* 100 mg per mL, tetes demi tetes sampai merah muda. Tambahkan 500 mg *natrium asetat P*, 0,5 mL *asam asetat 1 N*, dan 0,5 mL larutan garam *nitroso R* 2 mg per mL: segera terjadi warna merah atau merah jingga. Tambahkan 0,5 mL *asam hidroklorida P*, dan dididihkan selama 1 menit: warna merah tetap.

C. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

Fase gerak dan Sistem kromatografi Lakukan seperti tertera pada *Cemaran organik*.

Larutan baku Timbang saksama sejumlah *Sianokobalamin BPFI*, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 50 µg per mL. Gunakan larutan dalam waktu 1 jam.

Larutan uji Timbang saksama sejumlah zat, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* hingga kadar lebih kurang 50 µg per mL. Gunakan larutan dalam waktu 1 jam.

Waktu retensi puncak utama *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*.

Susut pengeringan <1121> Tidak lebih dari 12,0%; lakukan pengeringan dalam hampa udara pada tekanan tidak lebih dari 5 mmHg pada suhu 105° selama 2 jam, menggunakan lebih kurang 25 mg zat.

Cemaran organik Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

Larutan A Buat larutan *dinatrium hidrogen fosfat P* dengan kadar 10 g per Liter.

Fase gerak Buat campuran *metanol P-Larutan A* (26,5:73,5), atur pH hingga 3,5 dengan penambahan

asam fosfat P. Saring dan awaudarakan. Jika perlu lakukan penyesuaian menurut *Kesesuaian sistem* seperti tertera pada *Kromatografi <931>*.

Larutan kesesuaian sistem Larutkan 25 mg zat dalam 10 mL air, hangatkan jika perlu. Biarkan dingin, tambahkan 5 mL larutan *natrium tosil-kloramida P* 1,0 g per liter dan 0,5 mL *asam hidroklorida 0,05 N*, encerkan dengan air sampai 25 mL. Kocok, diamkan selama 5 menit. Pipet 1 mL larutan ini, encerkan dengan *Fase gerak* hingga 10 mL. Suntikkan segera.

Larutan batas kuantitatif Timbang sejumlah zat, larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* hingga kadar 1 µg per mL. Gunakan dalam waktu 1 jam.

Larutan uji Timbang sejumlah zat larutkan dan encerkan dengan *Fase gerak* hingga kadar 1 mg per mL. Gunakan dalam waktu 1 jam.

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor 361 nm, kolom berukuran 4,6 mm × 25 cm berisi bahan pengisi L7 dengan ukuran partikel 5 µm. Pertahankan suhu kolom pada 35°. Laju alir lebih kurang 0,8 mL per menit. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan kesesuaian sistem*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: resolusi, *R*, antara *sianokobalamin* dan *7β,8β-laktosianokobalamin* tidak kurang dari 2,5. Lakukan kromatografi terhadap *Larutan batas kuantitatif*, rekam kromatogram dan ukur respons puncak seperti tertera pada *Prosedur*: perbandingan "signal to noise" untuk puncak utama tidak kurang dari 5,0. [Catatan Kromatogram *Larutan kesesuaian sistem* harus menunjukkan dua puncak utama, *sianokobalamin* dan *7β,8β-laktosianokobalamin*. Waktu retensi relatif kedua puncak berturut-turut lebih kurang 1,0 dan 1,2.]

Prosedur Suntikkan sejumlah volume (lebih kurang 20 µL) *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. [Catatan Rekam kromatogram tidak kurang dari tiga kali waktu retensi puncak *sianokobalamin*.] Hitung persentase masing-masing cemaran dalam zat dengan rumus:

$$\left(\frac{r_i}{r_T} \right) \times 100$$

r_i adalah respon puncak masing-masing cemaran dari *Larutan uji*; *r_T* adalah jumlah semua respon puncak dari *Larutan uji*. Masing-masing cemaran dan total cemaran tidak lebih dari batas yang tertera pada *Tabel*.

Tabel

Nama	Waktu retensi relatif	Batas (%)
<i>Sianokobalamin</i>	1.0	-
<i>7β,8β-laktosianokobalamin</i>	1.2	1.0
<i>50-karboksianokobalamin</i>	1.4	0.5
<i>34-metilsianokobalamin</i>	1.5	2.0
<i>32-karboksianokobalamin</i>	1.6	1.0

Nama	Waktu retensi relatif	Batas (%)
8-epi-sianokobalamin	2.5	1.0
Cemaran tidak diketahui	-	0.5
Total cemaran	-	3.0

Catatan Abaikan puncak yang kurang dari 0,1%

Penetapan kadar Lakukan penetapan secara Spektrofotometri seperti yang tertera pada Spektrofotometri dan Hamburan Cahaya <1191>.

Larutan uji Timbang sejumlah zat, larutkan dan encerkan dengan air hingga kadar lebih kurang 30 µg per mL.

Prosedur Ukur serapan *Larutan uji* pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 361 nm, menggunakan air sebagai blangko. Hitung persentase sianokobalamin, $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$, dalam zat yang digunakan dengan rumus:

$$\frac{(A_U)}{(A_S \times C_U)}$$

A_U adalah serapan *Larutan uji*; A_S adalah serapan jenis ($E^{1\%}$) sianokobalamin pada 361 nm dalam 100 mL.g⁻¹. cm⁻¹, (207); dan C_U adalah kadar sianokobalamin dalam *Larutan uji* dalam g per mL berdasarkan bobot yang ditimbang.

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tertutup rapat, tidak tembus cahaya. Simpan dalam suhu ruang terkendali.

INJEKSI SIANOKOBALAMIN

Injeksi Vitamin B₁₂

Cyanocobalamin Injection

Injeksi Sianokobalamin adalah larutan steril Sianokobalamin dalam *Air untuk Injeksi* atau air untuk injeksi yang dibuat isotonik dengan penambahan *natrium klorida P*. Mengandung sianokobalamin, $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$, tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 115,0%, dihitung terhadap zat anhidrat dari jumlah yang tertera pada etiket.

Baku pembanding *Sianokobalamin BPFI*; lakukan pengeringan di atas *silika gel P* selama 4 jam sebelum digunakan. Simpan dalam wadah tertutup rapat, terlindung cahaya. *Endotoksin BPFI*; [Catatan Bersifat pirogenik, penanganan vial dan isi harus hati-hati untuk menghindari kontaminasi]. Rekonstitusi seluruh isi, simpan larutan dalam lemari pendingin dan gunakan dalam waktu 14 hari. Simpan vial yang belum dibuka dalam lemari pembeku.

Identifikasi Spektrum serapan ultraviolet larutan yang diperoleh pada Penetapan kadar pada panjang gelombang antara 300 nm dan 550 nm menunjukkan

maksimum hanya pada panjang gelombang yang sama seperti pada *Sianokobalamin BPFI*. Perbandingan serapan pada panjang gelombang 361 nm dan 550 nm adalah antara 3,15 dan 3,40.

Endotoksin bakteri <201> Tidak lebih dari 0,4 unit *Endotoksin FI* per µg sianokobalamin.

pH <1071> Antara 4,5 dan 7,0.

Syarat lain Memenuhi syarat seperti tertera pada Injeksi.

Penetapan kadar

Larutan baku Timbang saksama sejumlah *Sianokobalamin BPFI*, larutkan dan encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan air hingga kadar lebih kurang 30 µg per mL.

Larutan uji Ukur saksama sejumlah volume larutan injeksi setara dengan tidak kurang dari 300 µg sianokobalamin, encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap dengan air hingga kadar lebih kurang 30 µg per mL.

Prosedur Ukur serapan *Larutan baku* dan *Larutan uji* dalam sel 1-cm pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 361 nm, menggunakan air sebagai blangko. Hitung jumlah dalam µg sianokobalamin, $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$, dalam tiap mL injeksi dengan rumus:

$$10 \left(\frac{C}{V} \right) \left(\frac{A_U}{A_S} \right)$$

C adalah kadar *Sianokobalamin BPFI* dalam µg per mL *Larutan baku*; V adalah volume dalam mL injeksi yang digunakan; A_U dan A_S berturut-turut adalah serapan dari *Larutan uji* dan *Larutan baku*.

Wadah dan penyimpanan Dalam wadah tidak tembus cahaya, dosis tunggal atau dosis ganda, sebaiknya dari kaca Tipe I. Simpan pada suhu ruang terkendali.

TABLET SIANOKOBALAMIN

Tablet Vitamin B₁₂

Cyanocobalamin Tablets

Tablet Sianokobalamin (Vitamin B₁₂) mengandung sianokobalamin (vitamin B₁₂), $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.

Baku pembanding *Sianokobalamin BPFI*; tidak boleh dikeringkan, sangat higroskopik, buang sisa yang tidak digunakan, simpan terlindung dari cahaya, dalam lemari pendingin.



January 16, 2020 UTC+01

P.T. MENJANGAN SAKTI
 JL. HR RASUNA SAID KAY B-34
 12940 JAKARTA
 INDONESIA

CERTIFICATE OF ANALYSIS

CYANOCOBALAMIN VITAMIN B12 CRYSTALLINE

F6719

Batch number : 1907662827

Purchase: 1000155420 / February 25, 2019

Delivery: 1080191511

Manufacturing date : November 21, 2019
 Expiry date : November 20, 2024
 Analytical method : CYANOCOBALAMINE PHARMACEUTIQUE
 Storage conditions : Storage: room temperature.
 Inspection lot number : 6896562
 Compliance : This batch is accepted and complies with the specifications.

Tests	Analytical results	Specifications
Identity	Complies	Complies
Infra red spectrum	Complies	Complies
Appearance	Crystalline powder	Crystalline powder or small crystals
Coloration	Dark red	Red to purplish red
Appearance of aqueous solution (0.050g + 25ml)	Standard I	Reference suspension standard 1 maximum
Coloration of aqueous solution (0.050g + 25ml)	Red	Red
pH of aqueous solution (0.10g + 20mL)	5.9	4.2 to 7.0 pH
Loss on drying	2.2	≤ 3.0 %
Absorbance ratio 361/278nm	1.86	1.70 to 1.90
Absorbance ratio 361/550nm	3.28	3.15 to 3.40
Absorbance ratio 277-279/360-362nm	0.54	0.53 to 0.59
Absorbance ratio 548-552/360-362nm	0.30	0.29 to 0.32
Absorbance ratio 361/547-559nm	3.28	3.15 to 3.45
Assay by spectrophotometry (on dried basis)	99.8	97.0 to 100.5 %
Acetone (GC)	≤ 0.0010	≤ 0.1000 %
Total impurities HPLC (PE)	1.1	≤ 3.0 %
Total impurities HPLC (JP) ≤ 3.0%	Complies	Complies
Total impurities HPLC (USP)	1.4	≤ 3.0 %
7B, 8B-Lactocyanocobalamin	0.3	≤ 1.0 %
50-Carboxycyanocobalamin	0.0	≤ 0.5 %


SANOFI

January 16, 2020 UTC+01

CERTIFICATE OF ANALYSIS
CYANOCOBALAMIN VITAMIN B12 CRYSTALLINE
F6719

Batch number : 1907662827

Purchase: 1000155420 / February 25, 2019

Delivery: 1080191511

Tests	Analytical results	Specifications
34-Methylcyanocobalamin	0.3	$\leq 2.0 \%$
12-Carboxycyanocobalamin	0.1	$\leq 1.0 \%$
8-Epi-Cyanocobalamin	0.2	$\leq 1.0 \%$
Any other unidentified impurity	Complies	Complies
$\leq 0.5\%$		
Bacterial endotoxins $\leq 0.450\text{EU/mg}$	Complies	Complies

This product is « non pyrogenic » and complies with the current US, European, Indian and Japanese pharmacopoeia specifications. This batch has been manufactured in compliance with the current Good Manufacturing Practice requirements and complies with the specifications of the relevant marketing authorization.

Product manufactured at Saint-Aubin-lès-Elbeuf
BP 80125
76410 Saint-Aubin-lès-Elbeuf
France

The certificate of analysis has been produced by a validated Laboratory Information Management System and signed electronically the January 16, 2020 at 08:16:13 UTC+01 by Thierry CHAPERON Technicien supérieur qualité

Abs

1.250

0.000
200.0 400.0 600.0
Wavelength (nm.)

Peak Pick

No.	Wavelength (nm.)	Abs.
1	549.50	0.1266
2	361.50	0.4160
3	322.00	0.1151
4	305.50	0.1364
5	278.50	0.2262

2.500

Abs

1.250

0.000
200.0 400.0
Wavelength (nm.)

Peak Pick

No.	Wavelength (nm.)	Abs.
1	549.50	0.1780
2	361.50	0.5859
3	322.00	0.1610
4	305.50	0.1912
5	279.00	0.3158
6	208.50	1.6619

CHECKLIST KELENGKAPAN DOKUMEN MOA

Judul MOA : *Cyanocobalamin*

No. MOA : *AO-BB-01-018249-01*

NO	NAMA	YA	TIDAK	KETERANGAN
1	Acuan	✓		<i>FJ VI, Hal 1591-1593, 2020.</i>
2	Validasi Metode Analisa			
3	Transfer Metode Analisa			
4	Kromatogram	✓		<i>Identifikasi Spectrophotometry uv-vis.</i>
5	List kebutuhan reagen			
6	List kebutuhan alat			
7	COA BB	✓		
8	Parameter belum bisa dikerjakan (data diambil dari COA)		✓	a. -
				b. -
				c. -
				d. -
				e. -
				f. ✓

Paraf & tgl

Y 07/10'23