

VERIFIKASI METODE PENETAPAN KADAR KLORFENIRAMIN DENGAN KLT-DENSITOMETRI

Masitoh Suryaning Prahasiwi*

*Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang

ABSTRAK

Antihistamin adalah komponen yang umum terdapat dalam obat flu. Salah satu contoh antihistamin yang lazim ditemukan dalam obat flu adalah klorfeniramin maleat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui hasil keberterimaan verifikasi dan untuk mengetahui kadar klorfeniramin dalam tablet. Pelarut yang digunakan adalah NaOH 0,1N. Fase gerak yang digunakan adalah etil asetat : metanol : amonia 25% (55:40:5), fase diam silika gel F₂₅₄ dan panjang gelombang 263 nm. Uji kesesuaian sistem menghasilkan % RSD AUC sebesar 1,65 % dan % RSD *Rf* 0,36%. Persen *recovery* pada konsentrasi 250 mg/L didapat nilai 97,5% sedangkan pada konsentrasi 1000 mg/L dan 4000 mg/L didapat nilai 99,6% dan 100,20%. Uji presisi pada konsentrasi 250 mg/L didapat nilai 1,8% sedangkan pada konsentrasi 1000 mg/L dan 4000 mg/L didapat nilai 1,97% dan 1,28%. Metode KLT-densitometri yang digunakan telah memenuhi kriteria keberterimaan metode uji.

Kata kunci : FTIR, KLT-Densitometri, Klorfeniramin, Verifikasi.

PENDAHULUAN

Obat flu umumnya memiliki kandungan antihistamin, dekonjestan, antitusif, ekspektoran, dan analgesik/antipiretik (Ariani dan Wahyuni, 2021). Salah satu antihistamin yang umum ditemukan dalam obat flu adalah klorfeniramin maleat. Klorfeniramin maleat digunakan untuk meredakan gejala alergi dan juga bisa digunakan untuk meredakan gejala batuk pilek. Faktor yang mempengaruhi hasil pengujian untuk kualitas obat yang terjamin adalah validasi (BSN, 2018). Perlu dilakukan verifikasi metode analisis untuk membuktikan bahwa validasi metode analisis secara KLT-Densitometri dapat digunakan.

Penelitian Subramaniyan dan Das (2004) mengenai validasi klorfeniramin maleat secara simultan dengan KLT-Densitometri dengan sistem kromatografi berupa pengukuran dalam panjang gelombang 260 nm, fase gerak campuran sikloheksana, kloroform, metanol, dietilamina (4,5:4,0:0,5:1,0), dengan volume penotolan 10µL telah menunjukkan hasil yang memenuhi kriteria keberterimaan. Fouad dan El-Maraghy (2019) juga telah melakukan validasi metode analisis klorfeniramin maleat secara simultan menggunakan KLT-Densitometri dengan sistem kromatografi dengan panjang gelombang 204 nm, fase gerak campuran metanol : toluena : asam asetat (44:16:1). Moustafa dkk (2018) juga telah melakukan validasi metode analisis klorfeniramin maleat secara simultan dengan KLT-Densitometri menggunakan fase gerak etil asetat : metanol : amonia 33% dengan panjang gelombang 262 nm. Berdasarkan penelitian Subramaniyan dan Das (2004), Moustafa dkk

(2018) dan Fouad dan El-Maraghy (2019) yang telah dilakukan validasi metode maka dilakukan verifikasi metode analisis penetapan kadar klorfeniramin secara KLT-Densitometri untuk parameter akurasi dan presisi.

METODE PENELITIAN

Objek penelitian

Objek penelitian ini adalah parameter verifikasi metode analisis yang meliputi akurasi dan presisi secara KLT-Densitometri.

Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah sampel tablet NALGESTAN yang mengandung klorfeniramin maleat 2 mg. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar klorfeniramin dalam tablet. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah fase gerak yang digunakan adalah etil asetat : metanol : amonia 25% (55:40:5), penetapan kadar klorfeniramin menggunakan metode KLT-Densitometri, prosedur verifikasi metode analisis klorfeniramin dan penetapan kadar dengan parameter akurasi dan presisi.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain : spektrofotometer UV-Vis *Shimadzu* 1700, spektrofotometer FTIR *merek Agilent Technologies Cary 630 FTIR*, KLT-Densitometer *merek Camag model TLC Scanner 4*, neraca analitik labu takar, beaker glass, gelas ukur, pipet tetes, pipet volume, lempeng KLT, filler, batang pengaduk, coorong kaca, vial, *chamber*, kaca penutup *chamber*, pipet mikro *bluetip*, UV 254 nm.

Bahan yang digunakan antara lain : Baku klorfeniramin maleat yang diperoleh dari PT. Zenith, tablet NALGESTAN dari Darya Varia, plat silika gel F₂₅₄, etanol, metanol, sikloheksan, kloroform, dietilamina, etil asetat, amonia 25%, asam asetat dan toluen.

Optimasi Fase Gerak

Campuran fase gerak yang dioptimasi : (a) sikloheksana : kloroform : metanol : dietilamina (4,5:4,0:0,5:1,0) (Subramaniyan dan Das, 2004) ; (b) metanol : toluen : asam asetat (44:16:1) (Fouad dan El-Maraghy, 2019) ; (c) etil asetat : metanol : amonia 25% (8:2:0,8) (Moustafa dkk., 2018) direplikasi tiga kali kemudian dilanjutkan optimasi dengan lima perbandingan tiga replikasi

Uji Keseuaian Sistem

Larutan standar klorfeniramin konsentrasi 1000 mg/L ditotolkan pada plat silika gel F₂₅₄. Penotolan dilakukan 6 kali replikasi dengan volume 10 µL. Plat dielusi, dikeringkan, kemudian di *scan* dengan KLT-Densitometer, dihitung % RSD *Rf* dan % RSD AUC.

Akurasi

Larutan standar klorfeniramin dan larutan sampel dengan konsentrasi 250, 1000 dan 4000 mg/L ditotolkan sebanyak 10 µL pada plat silika gel F₂₅₄, masing-masing konsentrasi sampel direplikasi sebanyak 3 kali, dielusi kemudian di *scan* dengan KLT-Densitometer, dihitung % perolehan kembali .

Presisi

Larutan standar klorfeniramin 250, 1000 dan 4000 mg/L masing-masing plat ditotolkan sebanyak 10 µL pada plat silika gel F₂₅₄ dan direplikasi sebanyak 3 kali. Plat dielusi kemudian di *scan* dengan densitometer. Data yang diperoleh adalah AUC, dihitung nilai rata-rata, simpangan baku (SD) dan % RSD.

Penetapan Kadar

Larutan standar klorfeniramin dengan konsentrasi 250, 500, 1000, 2000 dan 4000 mg/L dan larutan sampel tujuh kali replikasi dengan konsentrasi 1000 mg/L ditotolkan sebanyak 10 µL pada plat silka gel F₂₅₄. Plat dielusi dan di *scan* dengan KLT-Densitometer.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi fase gerak bertujuan untuk mendapatkan pemisahan senyawa secara optimal. Parameter optimal dapat dilihat dengan nilai *R_f* yang berada pada rentang 0,2 - 0,8 dan nilai SD terkecil. (Wulandari dkk., 2013). Berdasarkan hasil optimasi yang diperoleh bahwa campuran etil asetat : metanol : amonia 25% (55:40:5) memenuhi parameter optimasi tersebut.

Sebelum dilakukan verifikasi, sistem KLT-Densitometri sebelumnya dilakukan uji kesesuaian sistem untuk mengetahui sistem kromatografi tersebut memenuhi syarat yang telah ditentukan, sehingga mutu data yang dihasilkan dapat dipertanggungjawabkan dan dapat dipercaya. Kriteria keberterimaan nilai RSD ≤ 2% (BPOM, 2013).

Tabel 1. Data Hasil Pengujian Uji Kesesuaian Sistem

Replikasi	Konsentrasi (mg/L)	Luas area	Retardation Factor (<i>R_f</i>)
I	1000	0,01774	0,757
II	1000	0,1780	0,752
III	1000	0,01776	0,752
IV	1000	0,01769	0,750
V	1000	0,01785	0,750
VI	1000	0,01848	0,750
Rata-rata		0,0178	0,175
SD		$2,9568 \times 10^{-4}$	$2,7146 \times 10^{-3}$
% RSD		1,65%	0,36%

% RSD luas area yang diperoleh yaitu 1,65 % dan % RSD pada nilai *Rf* yaitu 0,36 % sehingga memenuhi syarat presentase standar deviasi relatif yang kurang dari 2%.

Akurasi diukur dengan menghitung nilai *recovery*. Nilai *recovery* diperoleh dengan membagi kadar terukur dengan kadar sebenarnya dan dikalikan 100%.

Tabel 2. Hasil Uji Akurasi

Konsentrasi (mg/L)	Massa (µg)	Kadar Terukur (mg/ml)	AUC	% Recovery	Rata-rata % Recovery
250	2,4091	240,9	0,00518	96,36	97,52
	2,5843	258,4	0,00522	103,36	
	2,3215	232,1	0,00525	92,84	
1000	9,9430	994,3	0,00690	100,43	99,61
	9,5926	959,2	0,00682	95,92	
	10,2496	1024,9	0,00697	102,49	
4000	40,5606	4056,1	0,01389	101,40	100,20
	39,7281	3972,8	0,01370	99,32	
	39,9474	3994,7	0,01375	99,87	
Nilai % recovery= 99,11 %					

Hasil dari uji akurasi memenuhi syarat keberterimaan untuk larutan dengan konsentrasi 250 mg/L adalah 85-110 % (AOAC, 2002), sedangkan untuk larutan dengan konsentrasi 1000 dan 4000 mg/L adalah 92-105% (AOAC, 2002). Hasil yang diperoleh telah memenuhi kriteria penerimaan uji akurasi yang digunakan.

Tabel 4. Hasil Uji Presisi

Konsentrasi (mg/L)	AUC	Rata-rata	SD	%RSD
250	0,00390	$3,98 \times 10^{-3}$	$7,5498 \times 10^{-5}$	1,8
	0,00399			
	0,00405			
1000	0,00789	$7,8166 \times 10^{-3}$	$1,5373 \times 10^{-4}$	1,97
	0,00792			
	0,00764			
4000	0,01264	0,0124	$1,5947 \times 10^{-4}$	1,28
	0,01242			
	0,01233			
%RSD = 1,68 %				

Hasil dari uji presisi memenuhi syarat keberterimaan bahwa nilai %RSD untuk larutan dengan konsentrasi 250 mg/L adalah < 8 % (AOAC, 2002), sedangkan untuk larutan dengan konsentrasi 1000 dan 4000 mg/L adalah < 2% (AOAC, 2002).

SIMPULAN

Hasil verifikasi metode analisis penetapan kadar klorfeniramin secara KLT-Densitometri memenuhi syarat uji keberterimaan verifikasi yang meliputi akurasi dan presisi.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian uji verifikasi klorfeniramin maleat dalam tablet obat lain dengan konsentrasi yang berbeda.
2. Perlu dilakukan penelitian uji verifikasi klorfeniramin maleat dengan parameter selektivitas, sensitivitas, LOD, dan LOQ.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 2002. Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. *AIP Conference Proceedings*, **1661**: 1–38.
- Ariani, N. dan Wahyuni, A. 2021. Peningkatan Pengetahuan Ibu-ibu PKK Desa Tatah Layap Terhadap Penggunaan Obat Batuk dan Pilek di Masa Pandemi Covid-19. *Jurnal Bakti Untuk Negeri*, **1**: 13–17.
- BPOM. 2013. *Petunjuk Operasional Penerapan Pedoman Cara Pembuatan Obat Yang Baik*.
- BSN. 2018. *Implementasi SNI ISO/IEC 17025 : 2017*, Badan Standarisasi Nasional.
- Depkes RI. 2020. *Farmakope Farmasi Indonesia VI*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Fouad, M.M. dan El-Maraghy, C.M. 2019. Rapid validated thin-layer chromatography-densitometry for the simultaneous determination of three co-formulated drugs used for common cold treatment. *Journal of Planar Chromatography*, **32**: 127–131.
- ICH guidness. 2022. International Council for Harmonisation Technical. *Validation of Analytical Prosedures Q2(R2)*, **2**: .
- Kaura, A.K. et al. 2013. Spectrophotometric determination of Chlorpheniramine Maleate and Phenylpropanolamine Hydrochloride by “two wavelengths method.” *Journal of Pharmacy Research*, **7**: 404–408.
- Khopkar, S.M. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Moustafa, A.A., Hegazy, M.A., Mohamed, D., dan Ali, O. 2018. Simultaneous Quantification of Chlorpheniramine, Pseudoephedrine, and Ibuprofen in Antitussive Preparation by High-Performance Liquid Chromatography and Thin-Layer Chromatography–Densitometric Methods. *Journal of Planar Chromatography*, **31**: 272–279.
- Orzechowski, R.F., Currie, D.S., dan Valancius, C.A. 2005. Comparative Anticholinergic Activities of 10 Histamine H1 Receptor Antagonists In Two Functional Models. *European Journal of Pharmacology*, **506**: 257–264.
- Sirigiri, B., Chengalva, P., Parameswari, S.A., dan Aruna, G. 2018. A Novel HPLC Method For The Simultaneous Determination Of Clorpheniramine Maleat And Dextromethrophan In Bulk And Pharmaceutical Formulation. *International Journal*

Of Pharmaceutical Sciences And Research, **9**: 1147–1151.

Subramaniyan, S.P. dan Das, S.K. 2004. Rapid Identification and quantification of chlorpheniramine maleate or pheniramine maleate in pharmaceutical preparations by thin-layer chromatography-densitometry. *Journal of AOAC International*, **87**: 1319–1322.

Wulandari, L., Retnaningtyas, Y., dan Mustafidah, D. 2013. JKTI, Vol 15, No. 1.

Yuliantini, A., Yuristina, H., dan Tursino. 2018. Penetapan Kadar Pseudoefedrin Hcl Dan Klorfeniramin Maleat Dengan Metode Spektrofotometri Derivatif Dalam Sediaan Sirup. *Farmagazine*, **5**: 23–30.