

ANALISIS KADAR DIFENHIDRAMIN, DEKSTROMETORFAN DAN FENILEFRIN DALAM SIRUP OBAT BATUK MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI

Mukti Tri Utomo, Aqnes Budiarti*, Khoirul Anwar

Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim, Semarang, Jawa Tengah

*Email: aqnesbudiarti@unwahas.ac.id

Received: 05-08-2024

Accepted: 18-08-2024

Published: 20-08-2024

INTISARI

Difenhidramin hidroklorida, dekstrometorfan hidrobromida dan fenilefrin hidroklorida sering dikombinasi untuk mengobati batuk. Kadar ketiga senyawa dalam sirup obat batuk relatif kecil sehingga analisisnya membutuhkan metode yang bersifat simultan dan sensitif, salah satunya adalah metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Tujuan penelitian ini adalah mengembangkan metode analisis KCKT yang valid untuk menetapkan kadar difenhidramin, dekstrometorfan dan fenilefrin, mengaplikasikan metode tervalidasi tersebut pada sirup obat batuk serta menentukan kesesuaian kadar ketiga senyawa terhadap persyaratan. Penelitian ini menggunakan KCKT tipe isokratik (Jazco) dengan detektor UV pada 265 nm, fase diam C₁₈ dan fase gerak campuran dapar fosfat:metanol (30:70, v/v) dengan laju alir 1,0 mL/menit. Penelitian menghasilkan nilai $r=0,9999$ pada uji linieritas ketiga senyawa. Uji sensitivitas menghasilkan nilai LOD dan LOQ difenhidramin adalah 0,395 µg/mL dan 1,318 µg/mL; LOD dan LOQ dekstrometorfan adalah 0,642 µg/mL dan 2,141 µg/mL; LOD dan LOQ fenilefrin adalah 0,177 µg/mL dan 0,590 µg/mL. Uji selektivitas menghasilkan pemisahan yang baik dengan nilai $R \geq 1,5$. Uji presisi menghasilkan nilai %RSD $\leq 2\%$. Uji akurasi menghasilkan nilai perolehan kembali yang tepat. Kandungan ketiga senyawa dalam tiga sampel sirup batuk memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia. Dengan demikian, metode analisis yang dikembangkan memenuhi persyaratan semua parameter validasi dan dapat diaplikasikan.

Kata kunci: Dekstrometorfan, difenhidramin, fenilefrin, KCKT, validasi metode

ABSTRACT

Diphenhydramine hydrochloride, dextromethorphan hydrobromide and phenylephrine hydrochloride are often combined to treat cough. The levels of the three compounds in cough syrup are relatively small, so the analysis requires simultaneous and sensitive methods, one of which is the High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method. The purpose of this study is to develop a valid KCKT analysis method to determine the levels of diphenhydramine, dextromethorphan and phenylephrine, apply the validated method to cough syrup and determine the suitability of the levels of the three compounds to the requirements. This study used an isocratic type KCKT (Jazco) with a UV detector at 265 nm, a C₁₈ quiescent phase and a mixed motion phase with phosphate: methanol (30:70, v/v) with a flow rate of 1.0 mL/min. The study produced a value of $r=0.9999$ in the linearity test of the three compounds. The sensitivity test produced LOD and LOQ values of diphenhydramine were 0.395 µg/mL and 1.318 µg/mL; The LOD and LOQ of dextromethorphan were 0.642 µg/mL and 2.141 µg/mL; The LOD and LOQ of phenylephrine were 0.177 µg/mL and 0.590 µg/mL. The selectivity test produced a good separation with an R-value of ≥ 1.5 . Precision tests yield %RSD values $\leq 2\%$. Accuracy tests produce precise retrieval values. The content of the three compounds

in the three cough syrup samples met the requirements of the Indonesia Pharmacopoeia. Thus, the developed analysis method meets the requirements of all validation parameters and can be applied.

Keywords: *Dextromethorphan, diphenhydramine, HPLC, method validation, phenylephrine*

Corresponding author:

Nama : Aqnes Budiarti
Institusi : Universitas Wahid Hasyim
Alamat institusi : Jl. Raya Manyaran-Gunungpati, Semarang
E-mail : aqnesbudiarti@unwahas.ac.id

PENDAHULUAN

Difenhidramin hidroklorida (DF), dekstrometorfan hidrobromida (DM) dan fenilefrin hidroklorida (FE) sering dikombinasi untuk mengobati batuk pilek. DF merupakan antihistamin yang memiliki sifat sedatif dan anti alergi. DM berkhasiat sebagai penekan batuk akibat iritasi saluran bronkial dan FE berkhasiat untuk meredakan hidung tersumbat (Tjay & Rahardja 2007). Kadar ketiga senyawa dalam sediaan sirup batuk relatif kecil sehingga analisis kadarnya membutuhkan metode analisis yang bersifat simultan dan sensitif. Analisis kadar ini diperlukan untuk memastikan kadar tiap senyawa aktif sesuai dengan persyaratan agar berkhasiat sesuai dengan tujuan terapetiknya.

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan metode analisis yang mempunyai beberapa kelebihan, diantaranya adalah simultan, sensitif, cepat dan praktis. Metode analisis KCKT seperti halnya metode analisis yang lain haruslah bersifat valid agar kinerjanya sesuai dengan tujuan analisis. Validasi metode analisis dilakukan untuk menjamin metode analisis akurat, spesifik, reproduibel dan tahan pada kisaran kadar senyawa yang akan di analisis (Gandjar & Rohman 2015).

Beberapa penelitian telah mengembangkan metode analisis DF, DM dan FE, baik sebagai senyawa tunggal ataupun kombinasi dua senyawa. Namun demikian, belum banyak penelitian yang mengembangkan metode analisis DF, DM dan FE secara simultan dan cepat. Gomez et al. (2002) mengembangkan metode analisis DF, DM dan FE menggunakan elektroforesis kapiler. Pengembangan metode KCKT tipe gradien dengan deteksi pada panjang gelombang 264 nm untuk analisis DF, DM dan FE juga telah dilakukan (Sawant & Borkar 2015). Penelitian ini menggunakan fase diam C_{18} dan fase gerak berupa campuran asam sulfonat dan asetonitril. Metode analisis tervalidasi dan dapat diaplikasikan dalam sediaan sirup, namun metode ini membutuhkan waktu analisis yang relatif lama yaitu waktu retensi FE adalah 10 menit, DM adalah 39 menit dan DF adalah 42 menit. Disamping secara teknis harus menggunakan KCKT tipe gradien.

Baghel et al. (2020) mengembangkan metode KCKT dengan detektor UV pada panjang gelombang 270 nm untuk analisis DM dan FE serta triprolidin. Fase diam yang digunakan adalah C_{18} dan fase gerak berupa campuran metanol: air (20:80, v/v). Metode tervalidasi dan dapat diaplikasikan dalam sediaan sirup, namun membutuhkan waktu analisis yang relatif lama yaitu waktu retensi FE adalah 7 menit dan DM pada 29 menit. (Pandey, Alam & Mishra 2021) juga mengembangkan metode KCKT isokratik pada panjang gelombang 271 nm untuk analisis DM dan FE serta triprolidin. Fase diam yang digunakan adalah C_{18} dan fase gerak berupa campuran metanol: tetrahidrofur: air (70:10:20, v/v). Metode dapat diaplikasikan dalam sediaan sirup, namun metode tervalidasi sebatas pada parameter presisi, akurasi dan spesifitas. (Heydari 2008) mengembangkan metode KCKT pada panjang gelombang 227 nm untuk analisis DM dan FE serta parasetamol dan klorfeniramin. Penelitian menggunakan fase diam C_{18} dan fase gerak berupa campuran metanol: air (95:5, v/v). Metode tervalidasi dan dapat diaplikasikan dalam sediaan sirup, namun demikian nilai presisi analisis DM mendekati batas ketelitian 2%.

Javed et al. (2020) telah mengembangkan dan melakukan validasi metode KCKT untuk analisis DF dalam sediaan sirup pada panjang gelombang 220 nm. Fase diam menggunakan kolom C_{18} dan fase gerak berupa campuran metanol, air dan trietilamin (40:10:50, v/v/v). Metode tervalidasi pada semua parameter untuk analisis hanya satu senyawa yaitu DF. (Jaiswal 2015) mengembangkan

metode KCKT dengan detektor UV pada panjang gelombang 220 nm untuk menganalisis kadar DM dan FE serta klorfeniramin dalam sediaan sirup. Fase diam berupa kolom C₁₈ dan fase gerak berupa campuran dapar fosfat dan metanol (40:60 v/v). Meskipun metode analisis dinyatakan tepat dan selektif namun memiliki rentang linieritas yang relatif sempit untuk analisis DM dan FE yaitu masing-masing pada kisaran 5-15 µg/mL dan 2,5-7,5 µg/mL.

Berdasarkan latar belakang masalah maka perlu dilakukan pengembangan metode analisis difenhidramin, dekstrometorfan dan fenilefrin yang valid, cepat dan praktis. Validasi meliputi parameter linieritas, spesifitas, sensitivitas, presisi dan akurasi. Fase diam yang digunakan adalah C₁₈ dan fase gerak dioptimasi komposisinya berdasarkan hasil penelitian (Jaiswal 2015) yang menggunakan dua pelarut yang banyak tersedia yaitu dapar fosfat dan metanol. Metode analisis yang telah divalidasi ini kemudian diaplikasikan pada sediaan sirup batuk untuk memastikan mutu kadarnya sesuai dengan persyaratan Farmakope Indonesia.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah seperangkat KCKT tipe isokratik (Jasco) dilengkapi detektor UV-Vis, Pompa (PU 2080 plus), Kolom C₁₈ (LiChroCART) (125 x 4µm), Spektrofotometer UV/Vis (1800 Shimadzu), Syringe (Hamilton), pengolah data pada komputer (Ezchrom elite), membrane filter 0,45 µm (Nylon), digital ultrasonic cleaner (Jeken), mikropipet (Socorex), timbangan analitik (Ohaus), batang pengaduk dan alat-alat gelas (Pyrex). Bahan yang digunakan adalah zat standar difenhidramin HCl (Recordati Italia), dekstrometorfan HBr (Divi's Laboratories India) dan fenilefrin HCl (Spera Nexus Jepang), aquabidest, metanol serta sampel tiga merek dagang sirup obat batuk yang kemasannya mencantumkan tiap 5 mL mengandung difenhidramin HCl 7,5 mg, dekstrometorfan HBr 10 mg dan fenilefrin HCl 5 mg,

Jalannya Penelitian

Pembuatan larutan induk

Zat standar DF, DM dan FE masing-masing ditimbang 10,0 mg dengan seksama, dimasukkan ke dalam labu takar 50 mL yang berbeda lalu ditambahkan aquabidest sampai tanda batas hingga diperoleh konsentrasi masing-masing 200 µg/mL.

Penentuan panjang gelombang operasional

Larutan induk DE, DM dan FE masing-masing diambil dan diencerkan dengan fase gerak hingga diperoleh konsentrasi masing-masing 6 µg/mL. Masing-masing larutan discanning panjang gelombangnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang 200-400 nm. Titik potong ketiga kurva panjang gelombang digunakan sebagai panjang gelombang operasional (Snyder, Kirkland & Glajch 1997).

Optimasi fase gerak

Fase gerak berupa campuran dapar fosfat dan metanol dioptimasi pada tiga perbandingan yaitu: 40:60; 30:70; dan 20:80, v/v. Laju alir yang digunakan adalah 1,0 mL/menit. Fase gerak yang optimum dipilih berdasarkan luas area puncak kromatogram dan nilai resolusi antar puncak (Husnia & Budiarti 2021).

Pembuatan kurva baku

Larutan campuran DF, DM dan FE seri konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 dan 12 µg/mL disuntikkan 20 µL ke dalam sistem KCKT. Data luas area kromatogram dibuat persamaan regresi linier $y = bx + a$, dimana y = luas area kromatogram dan x = konsentrasi. Replikasi sebanyak 3 kali. Persamaan regresi linier yang memiliki nilai r terbesar dipilih sebagai kurva baku.

Validasi metode analisis

Validasi meliputi parameter linieritas, spesifitas, sensitivitas, ketelitian dan ketepatan. Uji linieritas dilakukan dengan menghitung nilai korelasi (r) dari persamaan regresi linier kurva baku ketiga senyawa dibandingkan dengan persyaratan uji. Uji sensitivitas atau kepekaan menggunakan persamaan regresi linier dari kurva baku terpilih. Nilai Y dan slope dihitung lalu nilai batas deteksi atau LOD ditentukan berdasarkan persamaan $Y = YB + 3SB$ dan nilai batas kuantitasi atau LOQ ditentukan berdasarkan persamaan $Y = YB + 10SB$. Uji selektivitas dilakukan dengan menghitung

nilai resolusi (R). antar puncak kromatogram ketiga senyawa lalu dibandingkan dengan persyaratan $R > 1,5$ (Harmita 2004).

Uji presisi dilakukan dengan cara larutan campuran DF, DM dan FE pada konsentrasi masing-masing 2, 4 dan 6 $\mu\text{g/mL}$ disuntikkan 20 μL ke dalam sistem KCKT. Replikasi dilakukan sebanyak 6 kali untuk masing-masing kadar lalu dihitung nilai %RSD. Uji akurasi dilakukan secara metode penambahan baku. Larutan yang mengandung DF, DM dan FE pada kadar tertentu ditambah zat standar DF, DM dan FE pada konsentrasi 80%, 100% dan 120%. Replikasi sebanyak 3 kali selanjutnya dihitung persen perolehan kembalinya (Snyder et al. 1997).

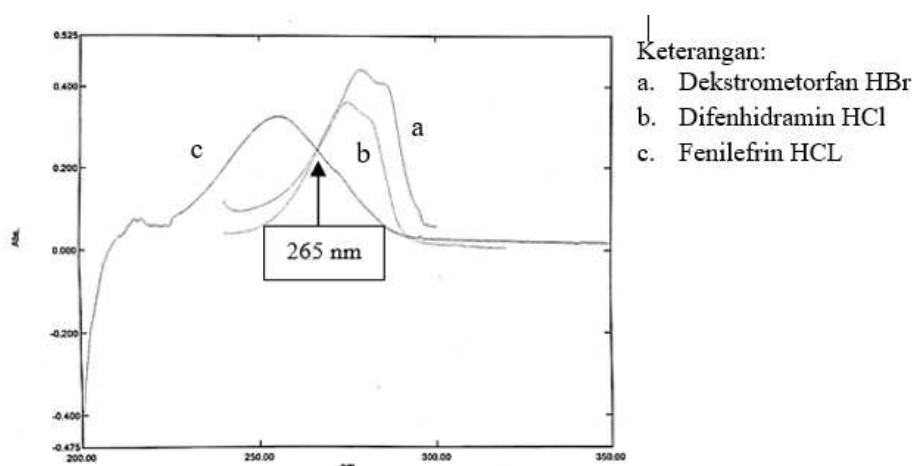
Penetapan kadar difenhidramin HCl, dekstrometorfan HBr dan fenilefrin HCl

Sampel sediaan sirup diambil 1,0 mL dengan mikropipet lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml kemudian dilarutkan dengan fase gerak sampai tanda batas. Larutan sampel dihilangkan gasnya dengan ultrasonikator selama 15 menit kemudian disaring dengan membran filter 0,45 μm . Larutan 20 μL diinjeksikan ke dalam sistem KCKT pada panjang gelombang terpilih dengan laju alir 1,0 mL/menit. Replikasi 6 kali (Snyder et al. 1997).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Panjang Gelombang Operasional

Panjang gelombang yang digunakan untuk menganalisis difenhidramin hidroklorida (DF), dekstrometorfan hidrobromida (DM) dan fenilefrin hidroklorida (FE) ditentukan berdasarkan titik isobastiknya. Titik ini merupakan titik potong ketiga kurva hasil *scanning* panjang gelombang masing-masing senyawa menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang tampak pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva *scanning* panjang gelombang difenhidramin HCl, dekstrometorfan HBr dan fenilefrin HCl

Hasil *scanning* menunjukkan panjang gelombang maksimal DF, DM dan FE masing-masing pada 305, 342 dan 284nm. Titik potong ketiganya atau isobastik diperoleh pada 265 nm sehingga titik ini dijadikan panjang gelombang operasional. Panjang gelombang ini sama dengan panjang gelombang yang digunakan oleh (Jaiswal 2015) yang menganalisis DM dan FE.

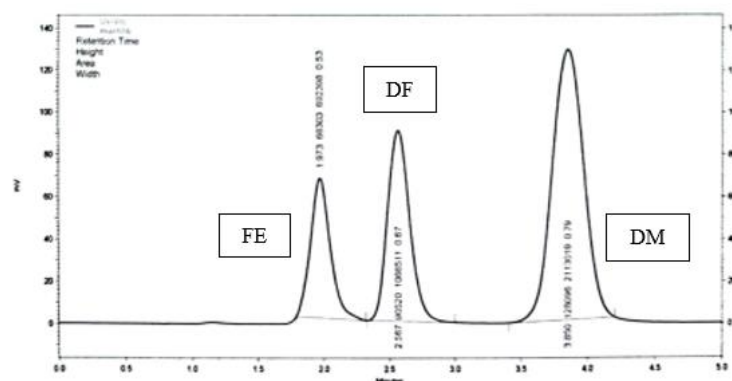
Optimasi Fase Gerak

Optimasi fase gerak dilakukan dengan cara merubah komposisi fase gerak pada tiga perbandingan. Cara ini dipilih karena komposisi fase gerak yang optimal dapat memperbesar daya pemisahan antar puncak kromatogram sehingga meningkatkan selektivitas metode dan meningkatkan sensitivitas metode (Snyder et al. 1997). Penetapan komposisi fase gerak yang optimum didasarkan pada besarnya nilai resolusi (R) dan luas puncak kromatogram DF, DM dan FE. Nilai resolusi yang memenuhi syarat adalah $R \geq 1,5$ yang menandakan pemisahan baik (Susanti & Dachriyanus 2017). Hasil optimasi fase gerak terdapat pada Tabel I.

Tabel I. Optimasi komposisi fase gerak

Fase Gerak (Dapar Fosfat: Metanol)	Waktu Retensi (menit)			Luas Puncak Kromatogram (unit)			Nilai Resolusi		Ket.
	FE	DF	DM	FE	DF	DM	FE- DF	DF- DM	
40:60	1,667	2,083	2,803	108.716	157.251	299.063	1,517	3,01	
30:70	1,973	2,567	3,850	692.398	1.066.511	2.113.019	1,958	3,76	Optimum
20:80	2,000	2,707	3,943	507.307	775.180	1.399.805	1,425	2,87	

Fase gerak dengan komposisi dapar fosfat dan metanol (30:70, v/v) menghasilkan nilai pemisahan dan luas area puncak kromatogram paling besar sehingga ditetapkan sebagai fase gerak terpilih untuk analisis. Komposisi fase gerak ini bergeser dari komposisi fase gerak yang digunakan oleh (Jaiswal 2015) dengan perbandingan dapar fosfat dan metanol (40:60, v/v). Kromatogram pada fase gerak terpilih dapat dilihat pada Gambar 2 berikut.

**Gambar 2. Kromatogram dengan fase gerak dapar fosfat: metanol (30:70, v/v)**

Kurva Baku

Kurva baku dipilih dari persamaan regresi linier yang diperoleh dari seri konsentrasi larutan campuran DF, DM dan FE pada konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 µg/mL yang terdapat pada Tabel II. Berdasarkan Tabel II maka dapat diketahui bahwa persamaan regresi linier terbaik diperoleh pada replikasi pertama karena memiliki nilai koefisien korelasi (r) paling besar untuk ketiga senyawa sehingga terpilih sebagai persamaan kurva baku. Dengan demikian, persamaan kurva baku DF adalah $Y = 51608x - 52481$, DM adalah $Y = 87278x - 163991$; dan FE adalah $Y = 61627x - 86169$.

Tabel II. Persamaan kurva baku difenhidramin HCl, dekstrometorfan HBr, dan fenilefrin HCl

Replikasi	Persamaan Kurva Baku		
	DF	DM	FE
1	$Y = 51608x - 52481$ $r = 0,9988$	$Y = 87278x - 163991$ $r = 0,9985$	$Y = 61627x - 86169$ $r = 0,9996$
2	$Y = 919795x - 2808$ $r = 0,9960$	$Y = 179533x - 552415$ $r = 0,9944$	$Y = 121503x - 222147$ $r = 0,9979$
3	$Y = 47667x - 67289$ $r = 0,9936$	$Y = 100396x - 138626$ $r = 0,9952$	$Y = 59183x + 0,77331$ $r = 0,9960$

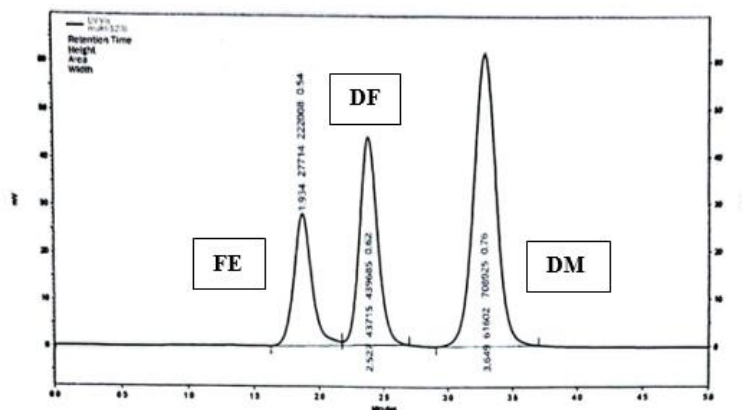
Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis yang dilakukan ini termasuk dalam kategori 1 yakni validasi metode untuk analisis komponen utama dalam sediaan. Dengan demikian, parameter yang diuji adalah linieritas, sensitivitas, spesifitas/selektivitas, presisi dan akurasi (Lister 2005). Uji linieritas dilakukan dengan mengamati nilai koefisien korelasi (r) persamaan regresi linier kurva baku yang

terpilih. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketiga persamaan regresi linier untuk DF, DM dan FE menghasilkan nilai r masing-masing adalah 0,9988, 0,9985 dan 0,9996. Ketiga nilai r memenuhi persyaratan nilai koefisien korelasi (r) untuk seri 5 titik yakni lebih besar dari 0,99 (Miller & Miller 2005). Hal ini menunjukkan kinerja metode mampu memberikan perubahan respon linier dengan perubahan kadar zat yang dianalisis (Harmita 2004)). Metode untuk analisis DM dan FE yang dihasilkan ini lebih linier dibandingkan metode yang telah dikembangkan oleh (Baghel et al. 2020) yang memperoleh nilai r untuk analisis DM dan DF masing-masing adalah 0,9980 dan 0,9960.

Uji sensitivitas metode dilakukan dengan menghitung nilai LOD dan LOQ menggunakan persamaan regresi linier kurva baku. Nilai LOD dan LOQ ini menandakan batas terkecil konsentrasi analit yang masih diizinkan untuk dilakukannya analisis. Semakin kecil nilai LOD dan LOQ maka semakin sensitif suatu metode analisis tersebut (Gandjar & Rohman 2015). Nilai LOD dan LOQ yang diperoleh untuk DF adalah 0,395 $\mu\text{g/mL}$ dan 1,318 $\mu\text{g/mL}$. LOD dan LOQ untuk DM adalah 0,642 $\mu\text{g/mL}$ dan 2,141 $\mu\text{g/mL}$, nilai ini lebih sensitif dibandingkan hasil yang diperoleh Pandey et al. (2021) dengan LOD dan LOQ adalah 57,50 $\mu\text{g/mL}$ dan 174,26 $\mu\text{g/mL}$. LOD dan LOQ untuk FE adalah 0,177 $\mu\text{g/mL}$ dan 0,590 $\mu\text{g/mL}$, nilai ini juga lebih sensitif dibandingkan nilai yang diperoleh (Pandey et al. 2021) dengan LOD dan LOQ untuk FE adalah 37,87 $\mu\text{g/mL}$ dan 114,77 $\mu\text{g/mL}$.

Hasil uji selektivitas ditetapkan berdasarkan nilai resolusi (R) antara puncak kromatogram DF, DM dan FE. Uji selektivitas menghasilkan pemisahan yang baik dengan nilai $R \geq 1,5$ yang dapat dilihat pada Tabel I dan Gambar 3 berikut.



Gambar 3. Kromatogram difenhidramin HCl, dekstrometofan HBr dan fenilefrin HCl

Hasil uji presisi metode ditentukan berdasarkan nilai %RSD (*Relative Standard Deviasi*) pada data waktu retensi, luas puncak dan tinggi puncak kromatogram. Tabel III menunjukkan hasil uji presisi DF, DM dan FE pada konsentrasi 2, 4 dan 6 $\mu\text{g/mL}$ memenuhi persyaratan $<2\%$ (Harmita 2004). Hasil uji presisi metode ini lebih teliti dibandingkan metode analisis yang dikembangkan oleh yang telah dikembangkan oleh (Heydari 2008) yang memperoleh nilai %RSD untuk analisis DF dan FE masing-masing adalah 1,74% dan 1,80%.

Tabel III. Presisi metode analisis difenhidramin HCl, dekstrometofan HBr dan fenilefrin HCl

Kadar ($\mu\text{g/mL}$)	% RSD		
	DF	DM	FE
2	0,073	0,032	0,053
4	0,041	0,006	0,039
6	0,012	0,002	0,034

Uji akurasi dilakukan secara metode penambahan zat standar. Hasil uji pada Tabel IV menunjukkan semua nilai perolehan kembali memenuhi persyaratan yakni 98-102% (Lister 2005) yang bermakna bahwa metode mampu mengukur kadar ketiga senyawa secara tepat sesuai dengan kadar sebenarnya.

Tabel IV. Akurasi metode analisis difenhidramin HCl, dekstrometorfan HBr dan fenilefrin HCl

Penambahan Baku (%)	DF	Perolehan kembali (%)	
		DM	FE
80	100,56 – 100,93	100,35 – 100,88	100,13 - 100,67
100	100,34 – 100,81	100,12 – 100,35	100,43 – 100,55
120	100,34 – 100,52	100,17 – 100,52	100,17 – 100,64

Penetapan Kadar Difenhidramin HCl, Dekstrometorfan HBr dan Fenilefrin HCl

Kadar DF, DM dan FE dalam tiga merek dagang sirup batuk ditetapkan berdasarkan luas area puncak kromatogram masing-masing yang diekstrapolasikan ke dalam persamaan regresi masing-masing senyawa. Hasil penetapan kadar dan kandungan DF, DM dan FE dalam ketiga sampel terdapat pada Tabel V. Kadar ketiga senyawa dalam ketiga sampel mendekati kadar yang tercantum pada etiketnya yaitu tiap 5 mL mengandung difenhidramin HCl 7,5 mg, dekstrometorfan HBr 10 mg dan fenilefrin HCl 5 mg. Berdasarkan Tabel V juga diketahui bahwa kandungan ketiga senyawa dalam ketiga sampel masih berada pada rentang kandungan yang memenuhi persyaratan yang ditetapkan oleh Farmakope Indonesia edisi VI (Depkes RI, 2020) yaitu 90,0% dan tidak lebih dari 100,0% dari jumlah yang tertera pada etiketnya.

Tabel V. Kadar difenhidramin HCl, dekstrometorfan HBr dan fenilefrin HCl dalam sirup obat batuk

Sampel	Kadar (mg/ 5 mL)			Kandungan (%)		
	DF	DM	FE	DF	DM	FE
A	7,49	10,05	4,96	99,87	100,50	99,20
B	7,54	10,01	5,04	100,53	100,10	100,80
C	7,51	10,08	5,05	100,13	100,80	101,00

KESIMPULAN

Metode KCKT yang dikembangkan untuk analisis difenhidramin, dekstrometorfan dan fenilefrin dapat divalidasi pada parameter linieritas, sensitivitas, spesifitas, presisi dan akurasi. Metode tervalidasi ini dapat diaplikasikan untuk menetapkan kadar ketiga senyawa dalam tiga merek sirup obat batuk. Selanjutnya metode analisis ini perlu dikembangkan untuk mendapatkan daya pemisahan yang lebih baik dan menghasilkan kromatogram fenilefrin yang tidak berekor agar penetapan kadarnya lebih tepat.

DAFTAR PUSTAKA

- Baghel, U.S., Sharma, H., Chouhan, A., Sharma, A., Mukim, M. & Singh, D. (2020) Gradient RP-HPLC Method Development for Simultaneous Estimation of Dextromethorphan Hydrobromide, Phenylephrine Hydrochloride, and Triprolidine Hydrochloride in Liquid Dosage Form, *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 13(2), 583–588.
- Depkes RI (2020) *Farmakope Indonesia Edisi VI*, Jakarta.
- Gandjar, I.G. & Rohman, A. (2015) *Kimia Farmasi Analisis*, 11th edn., Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Gomez, M.R., Olsina, R.A., Martínez, L.D. & Silva, M.F. (2002) Simultaneous Determination of Dextromethorphan, Diphenhydramine and Phenylephrine in Expectorant and Decongestant Syrups by Capillary Electrophoresis, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 30, 791–799.
- Harmita (2004) Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3).
- Heydari, R. (2008) A new HPLC Method for the Simultaneous Determination of Acetaminophen, Phenylephrine, Dextromethorphan and Chlorpheniramine in Pharmaceutical Formulations, *Analytical Letters*, 41(6), 965–976.

- Husnia, F. & Budiarti, A. (2021) Pengembangan Metode Analisis Kuersetin dalam Ekstrak Etanol Buah Leunca (*Solanum nigrum* L.) Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, *Media Farmasi*, 17(2), 108–115.
- Jaiswal, K.R. (2015) Analytical Method Development and Validation of RP-HPLC for Simultaneously estimation of Chlorpheniramine Maleate, Dextromethorphan Hydrobromide, Phenylephrine Hydrochloride in Cough Syrup, *7th IRF International Conference*, 53–58.
- Javed, H., Nisar, S., Shah, H. & Javed, N. (2020) Development and Validation of HPLC Method for Diphenhydramine Hydrochloride, *RADS J. Pharm. Pharm. Sci.*, 154–160.
- Lister, A.S. (2005) Validation of HPLC Methods in Pharmaceutical Analysis, in S. Ahuja & M.W. Dong (eds.), *Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC*, pp. 191–217, Worldwide Research & Development, Purdue Pharma, New York.
- Miller, J.C. & Miller, J.N. (2005) *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 5th ed., Pearson Education Limited, Edinburgh Gate, England.
- Pandey, V.K., Alam, G. & Mishra, J.N. (2021) Development and Validation of a New Isocratic RP-HPLC Method for Simultaneous Estimation of Dextromethorphan Hydrobromide, Phenylephrine Hydrochloride and Triprolidine, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 12(9), 4920–4926.
- Sawant, S. & Borkar, N. (2015) Validation of High-Performance Liquid Chromatographic Method for the Simultaneous Determination of Common Cough and Cold Ingredients in Multicomponent Oral Drug Products, *International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 5(1), 47–62.
- Snyder, R.I., Kirkland, J.J. & Glajch, J.L. (1997) *Practical HPLC Method Development*, 2nd ed., John Wiley & Sons Inc., New York.
- Susanti, M. & Dachriyanus (2017) *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*, Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi, Universitas Andalas, Sumatera Barat.
- Tjay, T.H. & Rahardja, K. (2007) *Obat-Obat Penting: Kasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*, 6th ed., PT. Elex Media Komputindo, Jakarta.