

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Campuran deksametason (DM) dan deksklorfeniramin maleat (DK) dalam sediaan obat sudah banyak digunakan. Kemampuan menanggulangi peradangan dan alergi yang dimiliki DM dan DK merupakan hal yang melatar belakangi campuran obat ini (Helmy dan Munasir, 2007).

Dosis penggunaan DK dan DM kecil karena jika berlebihan dampaknya akan terjadi overdosis sehingga membutuhkan metode analisis yang tepat untuk menentukan kadar masing-masing obat. Penjaminan kualitas obat dalam plasma sangat penting agar obat memiliki khasiat dan keamanan yang dapat diterima oleh pasien (Harahap, 2010). Salah satu kontrol yang dapat digunakan adalah pengukuran analitik yang meliputi pengukuran dan penetapan kadar obat. Dengan demikian dibutuhkan metode analisis untuk diaplikasikan dalam kontrol kualitas obat.

Berdasarkan FI Edisi IV, kadar DM dapat ditentukan secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) menggunakan ODS (4 mm x 25 cm) dengan fase gerak campuran air dan asetonitril P (7:3), dan deteksi dilakukan pada panjang gelombang 254 nm. KCKT merupakan metode yang memiliki banyak keuntungan, antara lain mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran, kecepatan analisis dan kepekaan yang tinggi, mudah pelaksanaannya, dapat dihindari terjadinya dekomposisi/kerusakan bahan yang dianalisis, resolusi yang baik, dapat digunakan bermacam-macam detektor, kolom dapat digunakan kembali dan mudah melakukan perolehan kembali (Putra, 2004). Penelitian

tentang penetapan kadar DM dalam tablet campuran dengan DK menggunakan metode KCKT dalam sediaan tablet telah dilakukan oleh Syarif (2009) menggunakan kolom Shimpack VP-ODS dan fase gerak asetonitril dan air (1:2) dengan laju alir 2,5 mL/menit, pada panjang gelombang 254 nm. Laju alir yang digunakan terlalu besar sehingga akan mempengaruhi waktu keluarnya analit.

Urban dkk., (2009) mengembangkan metode analisis kuantitatif DM asetat dalam mikroemulsi menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dengan deteksi UV. Fase diam yang digunakan adalah C_{18} dan fase gerak isokratiknya adalah metanol:air (65:35, v/v) dengan laju alir 1,0 mL/min. Penentuan menggunakan UV-Vis detektor pada 239 nm. Penelitian menghasilkan linieritas bagus namun waktu retensi lambat.

Yolanda dkk., (2016) menggunakan sistem KCKT Pasangan Ion untuk menetapkan kadar pseudoefedrin HCL, guaifenesin, DK menggunakan KCKT. Fase diam yang digunakan adalah C_{18} , fase gerak berupa metanol:asetonitril: Natrium pentasulfonat pada pH $4,0 \pm 0,1$ (55:5:40, v/v/v), dan deteksi ultraviolet 218 nm. Meskipun demikian, masih terlihat adanya *tailing* pada puncak kromatogram.

DK lebih polar daripada DM sehingga dapat dipisahkan menggunakan kromatografi fase balik (C_{18}) dan DK akan terelusi terlebih dahulu dibandingkan DM (Syarif, 2009).

Berdasarkan hal di atas, maka dilakukan penelitian mengenai penetapan kadar deksametason dan deksklorfeniramin maleat dengan metode KCKT serta aplikasinya dalam sediaan sirup dan memvalidasi metode tersebut meliputi presisi, akurasi, selektivitas, linieritas, dan sensitivitas.

B. Perumusan Masalah

1. Apakah validasi metode penetapan kadar DM dan DK menggunakan KCKT dengan fase diam C_{18} dan fase gerak air:metanol dapat dilakukan?
2. Apakah metode yang telah divalidasi dapat diaplikasikan dalam sediaan sirup?
3. Apakah kadar DM dan DK dalam sediaan sirup memenuhi persyaratan menurut Farmakope Indonesia Edisi IV (1995)?

C. Tujuan Penelitian

1. Melakukan validasi terhadap metode penetapan kadar DM dan DK menggunakan KCKT dengan fase diam C_{18} dan fase gerak air:metanol.
2. Mengaplikasikan metode yang telah divalidasi dalam sediaan sirup.
3. Mengetahui kadar DM dan DK dalam sediaan sirup dan kesesuaiannya dengan persyaratan yang ditetapkan Farmakope Indonesia Edisi IV (1995).

D. Manfaat Penelitian

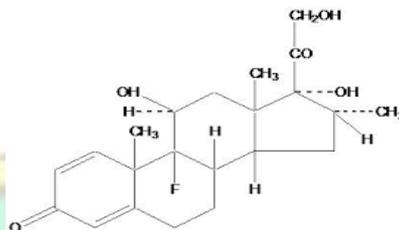
Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan metode yang dapat digunakan sebagai acuan untuk analisis DM dan DK dalam sediaan sirup.

E. Tinjauan Pustaka

A. Deksametason

Deksametason (DM) adalah salah satu kortikosteroid yang digunakan sebagai obat/zat diagnostik untuk menentukan hiperfungsi adrenal (Tjay dan Rahardja, 2002).

DM memiliki nama lain 9-Fluoro-11 β ,17,21-trihidroksi-16-metilpregna-1,4-diena-3,20-dion dengan rumus molekul $C_{22}H_{29}FO_5$ dan bobot molekul 392,47, struktur kimia deksametason ditunjukkan oleh Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Kimia Deksametason (Depkes RI, 1995)

DM berupa serbuk hablur, putih sampai praktis putih, tidak berbau, stabil di udara. DM praktis tidak larut air, agak sukar larut dalam aseton, dalam etanol, dioksan dan dalam metanol, sukar larut dalam kloroform, sangat sukar larut dalam eter (Depkes RI, 1995).

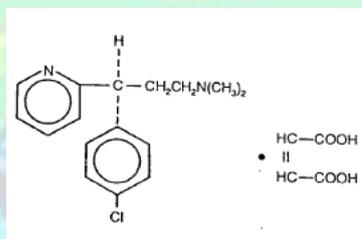
Tamilanban dkk., (2012) mengembangkan metode analisis DM dalam jumlah besar menggunakan KCKT fase terbalik. Metode ini menggunakan thermo Hypersil kolom BDC (250 mm \times 4,6 mm, 5 mm) pada suhu kamar. Fase gerak terdiri dari penyangga 0,1 M Kalium dihidrogen fosfat PH 2,3 dengan asam fosfat orto:metanol (60:40) pada laju alir 1,0 mL/menit dengan panjang gelombang ditetapkan pada 226 nm. Metode memenuhi syarat validasi.

Urban dkk., (2009) mengembangkan metode analisis kuantitatif DM asetat dalam mikroemulsi menggunakan KCKT dengan deteksi UV. Fase diam yang digunakan adalah Lichrospher 100 RP-18 kolom dan fase gerak isokratiknya adalah metanol:air (65:35, v/v) dengan laju alir 1,0 mL/menit. Penentuan dilakukan dengan menggunakan UV-Vis detektor ditetapkan pada 239 nm. Metode yang digunakan menunjukkan hasil spesifitas, selektivitas dan

linieritas dalam rentang persyaratan yang berlaku dengan presisi dan akurasi yang baik, sehingga sangat cocok untuk kuantifikasi deksametason dalam mikroemulsi.

B. Deksklorfeniramin maleat

Deksklorfeniramin maleat (DK) diindikasikan sebagai antihistamin kuat digunakan untuk pengobatan beberapa alergi dan iritasi kulit (Fereja dkk., 2015). DK memiliki nama lain (+)-2-[p-Kloro- α -[2 (dimetilamino)etil]benzyl] piridina maleat dengan rumus molekul $C_{16}H_{19}ClN_2 \cdot C_4H_4O_4$ dan bobot molekul 390,87. Struktur kimia deksklorfeniramin maleat ditunjukkan oleh Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Kimia Deksklorfeniramin Maleat (Depkes RI, 1995)

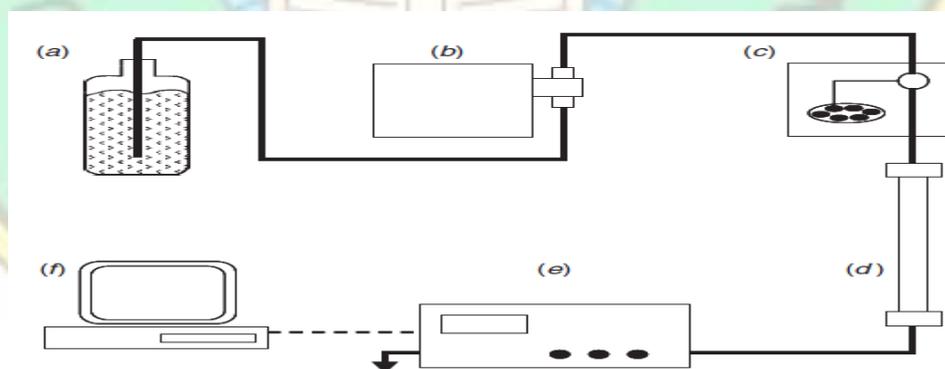
DK berupa serbuk hablur, tidak berbau. DK mudah larut dalam air, larut dalam etanol, dan dalam kloroform, sukar larut dalam benzena dan dalam eter (Depkes RI, 1995).

Yolanda dkk., (2016) menggunakan sistem KCKT Pasangan Ion untuk menetapkan pseudoefedrin HCL, guaifenesin, deksklorfeniramin maleat dengan menggunakan KCKT Shimadzu, fase diam yang digunakan adalah C_{18} . Fase gerak berupa metanol:asetonitril:Natrium pentasulfonat pada pH $4,0 \pm 0,1$ (55:5:40, v/v/v), deteksi ultraviolet 218 nm, laju alir 1 mL/menit. Hasil penelitian menunjukkan linieritas baik untuk DK. Nilai perolehan kembali DK adalah 100,822%.

C. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

KCKT merupakan salah satu metode kromatografi cair yang menggunakan fase diam yang ditempatkan dalam suatu kolom tertutup dan juga fase geraknya berupa pelarut yang dialirkan dengan cepat kedalam kolom dengan bantuan pompa/tekanan (Jamaludin, 2007).

Kelebihan metode KCKT adalah mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran, resolusinya baik, kecepatan analisis dan kepekaannya tinggi, dapat dihindari terjadinya dekomposisi/kerusakan bahan yang dianalisis, dapat digunakan bermacam-macam detektor, mudah melaksanakannya, kolom dapat digunakan kembali, mudah melakukan perolehan kembali, instrumennya memungkinkan untuk bekerja secara otomatis dan kuantitatif (Putra, 2004). Keterbatasan metode KCKT adalah jika sampelnya sangat kompleks, maka resolusi yang baik sulit diperoleh (Gandjar dan Rohman, 2007). Skema komponen KCKT ditunjukkan oleh Gambar 3.



Gambar 3. Skema Komponen KCKT (Snyder, 2010)

- Keterangan:
- a. Wadah fase gerak
 - b. Pompa
 - c. Injektor
 - d. Kolom
 - e. Detektor
 - f. Komputer atau integrator

a. Wadah Fase Gerak

Wadah fase gerak harus bersih dan lembam (*inert*). Wadah ini biasanya dapat menampung fase gerak antara 1 sampai 2 liter pelarut. Fase gerak sebelum digunakan harus dilakukan *degassing* (penghilangan gas) yang ada pada fase gerak, sebab adanya gas akan berkumpul dengan komponen lain terutama di pompa dan detektor sehingga akan mengacaukan analisis. Adanya pengotor dalam reagen dapat menyebabkan gangguan pada sistem kromatografi. Fase gerak sebelum digunakan harus disaring terlebih dahulu untuk menghindari partikel-partikel kecil (Gandjar dan Rohman, 2007).

b. Pompa

Pompa yang cocok digunakan untuk KCKT adalah pompa yang mempunyai syarat wadah pelarut yaitu pompa harus *inert* terhadap fase gerak. Tujuan penggunaan pompa atau sistem penghantaran fase gerak adalah untuk menjamin proses penghantaran fase gerak berlangsung secara tepat, reproduibel, konstan dan bebas dari gangguan (Gandjar dan Rohman, 2007).

c. Injektor

Sampel-sampel cair dan larutan disuntikkan secara langsung ke dalam fase gerak yang mengalir di bawah tekanan menuju kolom menggunakan alat penyuntik yang terbuat dari tembaga tahan karat dan katup teflon yang dilengkapi dengan keluk sampel (*sampel loop*)

internal atau eksternal (Gandjar dan Rohman, 2007). Injektor suntik merupakan bentuk injektor yang paling sederhana (Mayer, 2004).

d. Kolom

Kolom merupakan jantung dari sistem KCKT, dimana didalam kolom terjadi pemisahan komponen-komponen cuplikan (Jamaludin, 2007). Kolom umumnya dibuat dari *stainless* dan biasanya dioperasikan pada temperatur kamar, tetapi bisa juga digunakan pada temperatur lebih tinggi terutama untuk kromatografi penukar ion dan kromatografi eksklusi (Putra, 2004).

e. Detektor

Detektor dibutuhkan untuk mendeteksi adanya komponen sampel di dalam kolom (analisis kualitatif) dan menghitung kadarnya (analisis kuantitatif). Detektor yang baik memiliki sensitifitas yang tinggi, gangguan yang rendah, kisar respon linier yang luas dan memberikan respon untuk semua tipe senyawa (Putra, 2004).

f. Komputer atau Integrator

Komputer atau integrator berfungsi untuk menampilkan hasil yang diperoleh (Jamaludin, 2007). Hasil dari pemisahan kromatografi biasanya ditampilkan dalam bentuk kromatogram pada rekorder (Putra, 2004).

D. Validasi

Validasi metode analisis adalah proses untuk menjamin bahwa prosedur uji yang dilakukan memenuhi standar yang dapat diterima dan sesuai dengan

tujuan yang telah ditetapkan. Metode uji yang berbeda membutuhkan parameter validasi yang berbeda. Parameter validasi untuk masing-masing tipe metode analisis dapat dilihat pada Tabel I (Lister, 2005).

Tabel I. Parameter Validasi untuk Masing-Masing Tipe Metode Analisis

Parameter Validasi	Uji Kategori I	Uji Kategori II		Uji Kategori III	Uji Kategori IV Identifikasi
		Kuantitatif	Uji Batas		
Linieritas	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak
Akurasi	Ya	Ya	*	Ya	Tidak
Presisi	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak
Kisaran	Ya	Ya	*	Ya	Tidak
Selektivitas	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya
LOD	Tidak	Ya	Ya	*	Tidak
LOQ	Tidak	Ya	Tidak	*	Tidak

*Mungkin dibutuhkan, tergantung pada uji masing-masing

Parameter validasi menurut *International Conference on Harmonization (ICH) Guidance for Validation of Analytical Procedures* (2006) adalah akurasi, presisi, spesifisitas, *Limit of Detection (LOD)*, *Limit of Quantitation (LOQ)*, dan linieritas. Beberapa parameter analisis dalam validasi metode analisis diuraikan dan didefinisikan sebagai berikut :

1. Akurasi

Akurasi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (rekoveri) analit yang ditambahkan (Harmita, 2004). Menurut ICH, pengumpulan data uji akurasi dilakukan dengan 9 kali penetapan kadar dengan 3 konsentrasi yang berbeda (misal 3 konsentrasi dengan 3 kali replikasi) (Gandjar dan Rohman, 2012). Kriteria nilai perolehan kembali dapat diterima berdasarkan besarnya konsentrasi analit dapat dilihat pada Tabel II (Harmita, 2004).

Tabel II. Nilai Perolehan Kembali Suatu Metode Analisis yang Dapat Diterima Berdasarkan Besarnya Konsentrasi Analit

% Analit	Frakasi Analit	Unit Konsentrasi	Rata-rata Perolehan Kembali (%)
100	1	100%	98 – 102
10	10 ⁻¹	10%	98 – 102
1	10 ⁻²	1%	97 – 103
0,1	10 ⁻³	0,10%	95 – 105
0,01	10 ⁻⁴	100 ppm	90 – 107
0,001	10 ⁻⁵	10 ppm	80 – 110
0,0001	10 ⁻⁶	1 ppm	80 – 110
0,00001	10 ⁻⁷	100 ppb	80 – 110
0,000001	10 ⁻⁸	10 ppb	60 – 115
0,0000001	10 ⁻⁹	1 ppb	40 – 120

2. Presisi

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Uji presisi dilakukan dengan menentukan parameter RSD (*Relative Standard Deviasi*). Suatu metode dikatakan mempunyai presisi yang baik apabila nilai RSD lebih kecil atau sama dengan 2% (Harmita, 2004).

3. Selektivitas

Selektivitas seringkali dapat dinyatakan sebagai derajat penyimpangan (*degree of bias*) metode yang dilakukan terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan berupa cemar, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya dan dibandingkan terhadap hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan lain yang ditambahkan (Harmita, 2004).

4. Linieritas

Linieritas adalah kemampuan metode analisis untuk menunjukkan bahwa nilai hasil uji langsung atau setelah diolah secara matematika, proporsional dengan konsentrasi analit dalam sampel dalam batas rentang konsentrasi tertentu. Rentang suatu metode analisis adalah interval antara batas konsentrasi tertinggi dan konsentrasi terendah analit masih menggunakan ketelitian, ketepatan dan linieritas (Gandjar dan Rohman, 2007).

Parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi (r) pada analisis regresi linier $Y = bX + a$. Hubungan linier yang ideal dicapai jika nilai $b = 0$ dan $r = +1$ atau -1 bergantung pada arah garis. Sedangkan nilai a menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan (Harmita, 2004).

5. Sensitivitas (LOD/LOQ) atau batas deteksi

Batas deteksi merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko (Gandjar dan Rohman, 2007). Batas deteksi merupakan parameter uji batas (Harmita, 2004). Pendekatan yang paling umum adalah menetapkan jumlah sampel yang dapat memberikan perbandingan sinyal terhadap gangguan (S/N) 2:1 atau 3:1 dan yang sering digunakan adalah 3:1 (Lister, 2005).

Batas kuantifikasi merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita,

2004). Batas kuantifikasi sering digunakan sebagai batas bawah untuk pengukuran nilai kuantitatif yang tepat. Batas kuantifikasi seringkali didasarkan pada nilai *signal to noise* (S/N) = 10 (Snyder dkk., 1997). Nilai LOD yang umum digunakan adalah kadar analit yang memberikan respon sebesar respon blanko, Y_B , ditambah simpangan baku blanko (S_B). Jadi, $Y - Y_B = 3S_B$. Nilai LOQ sering digunakan sebagai batas bawah untuk pengukuran kuantitatif yang tepat. Nilai $Y_B + 10 S_B$ disarankan untuk batas kuantifikasi ini (Miller dan Miller, 1988).

E. Sirup

Sirup adalah sediaan cair berupa larutan yang mengandung sukrosa. Kecuali dinyatakan lain kadar sukrosa tidak kurang dari 64,0%, tidak lebih dari 66,0% (DepKes RI, 1995).

Sirup efektif untuk pemberian obat anak-anak. Rasanya yang enak biasanya menghilangkan keengganan pada sebagian anak-anak untuk meminum obat. Kebanyakan sirup-sirup mengandung sebagian besar sukrosa, biasanya 60 sampai 80%, tidak hanya disebabkan karena rasa manis dan kekentalan yang diinginkan dari larutan, tetapi juga karena sifat stabilitasnya yang berbeda dengan sifat larutan encer dari sukrosa yang tidak stabil. Komponen sirup adalah sebagai berikut:

1. Gula, biasanya sukrosa atau pengganti gula yang digunakan untuk memberi rasa manis dan kental.
2. Pengawet antimikroba,
3. Pembau,
4. Pewarna (Ansel, 1989).

F. Landasan Teori

Penelitian sebelumnya oleh Yolanda dkk., (2016) tentang validasi penetapan pseudoefedrin HCL, guaifenesin, DK dalam sirup batuk dan pilek menggunakan KCKT Pasangan Ion dengan fase diam C_{18} dan fase gerak berupa metanol:asetonitril:Natrium pentasulfonat pada pH $4,0 \pm 0,1$ (55:5:40, v/v/v), deteksi ultraviolet 218 nm, laju alir 1 mL/menit menunjukkan bahwa metode analisis memenuhi kriteria selektif, linier, tepat, akurat sesuai ketentuan yang berlaku.

Penelitian tentang penetapan kadar DM dalam tablet campuran dengan deksklorfeniramin maleat menggunakan metode KCKT dalam sediaan tablet telah dilakukan oleh Syarif (2009) menggunakan kolom C_{18} (4,6 mm x 30 cm), dan fase gerak asetonitril dan air (1:2) dengan laju alir 2,5 mL/menit, pada panjang gelombang 254 nm. Metode yang digunakan menunjukkan validasi memenuhi persyaratan yang tertera dalam Farmakope Indonesia Edisi IV (1995).

Kelebihan metode KCKT adalah mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran, resolusinya baik, kecepatan analisis dan kepekaannya tinggi, dapat dihindari terjadinya dekomposisi/kerusakan bahan yang dianalisis, dapat digunakan bermacam-macam detektor, mudah melaksanakannya, kolom dapat digunakan kembali, mudah melakukan perolehan kembali, instrumennya memungkinkan untuk bekerja secara otomatis dan kuantitatif (Putra, 2004).

G. Hipotesis

Berdasarkan pada landasan teori yang telah diuraikan diatas, maka dapat dibuat hipotesis sebagai berikut :

1. Penetapan kadar DM dan DK dapat divalidasi menggunakan KCKT.
2. Metode penetapan kadar DM dan DK dapat diaplikasikan dalam sediaan sirup.
3. Kadar DM dan DK didapatkan hasil yang memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia Edisi IV.

