

## Penetapan Kadar Pseudoefedrin Hcl Dan Loratadin Dalam Kombinasi Sediaan Kapsul Menggunakan Metode Klt Video Densitometri

Aiyi Asnawi<sup>1</sup>, Ellin Febrina<sup>2</sup>, Deden Indra Dinata<sup>3</sup>, Farizan Nur Fazrina<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Jl. Ganesha No. 10 Bandung, Jawa Barat, Indonesia

<sup>2</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung Sumedang Km 21, Jawa Barat, Indonesia

<sup>3</sup>Sekolah Tinggi Farmasi Bandung, Jl. Soekarno-Hatta, No. 754 Cibiru, Bandung, Jawa Barat, Indonesia

\*E-mail: aiyiasnawi@gmail.com

### ABSTRAK

Sediaan pseudoefedrin HCl dan loratadine tersedia di perdagangan dalam bentuk kombinasi campuran. Sediaan yang berupa campuran, memerlukan metode analisis dengan perlakuan lanjut sebelum dilakukan pengukuran dikarenakan adanya perbedaan sifat fisikokimia dari zat yang terkandung di dalamnya. Oleh sebab itu diperlukan metode analisis yang akurat, jika memungkinkan sederhana dan murah, untuk menganalisis kandungan sediaan kombinasi tersebut. Salah satu metode yang sederhana yang mampu memberikan hasil yang akurat adalah KLT video densitometri. Tujuan dari penelitian ini untuk memvalidasi metode dalam menetapkan kadar pseudoefedrin HCl dan loratadine dalam sediaan kapsul menggunakan metode KLT video densitometri. Tahapan penelitian meliputi uji kesesuaian sistem menggunakan fase diam plat silika gel GF<sub>254</sub> dan fase gerak campuran pelarut metanol-amonia (10mL: 4 tetes, v/v); validasi metode analisis, dan penetapan kadar dalam sediaan yang beredar di pasar. Perekaman gambar dilakukan di bawah lampu UV 255nm menggunakan alat video densitometri dan pengukuran luas dibawah kurva (AUC) dari gambar bercak menggunakan perangkat lunak TLC Analyzer. Penotolan sampel dilakukan secara manual menggunakan pipa kapiler. Hasil uji kesesuaian sistem diperoleh nilai Rf pseudoefedrin HCl dan loratadine berturut-turut adalah 0,35 dan 0,84. Persamaan kurva kalibrasi untuk pseudoefedrin HCl dan loratadine berturut-turut adalah  $Y = 0,3003X - 715,94$  dan  $Y = 6,8705X + 222,86$ . Hasil penetapan kadar pseudoefedrin HCl dan loratadine dalam sediaan kapsul berturut-turut adalah sebesar 99,42% dan 101%, dan telah memenuhi syarat yang ditetapkan dalam Farmakope Indonesia. Berdasarkan nilai-nilai parameter validasi dan hasil penetapan kadar tersebut maka metode KLT video densitometri memenuhi syarat yang telah ditetapkan untuk analisis kadar campuran loratadine dan pseudoefedrin HCl.

**Kata kunci:** Kapsul, KLT video densitometri, loratadine, pseudoefedrin HCl, validasi metode.

### ABSTRACT

*Loratadine and pseudoephedrine HCl are available commercially in a combination of pharmaceutical dosage forms. A combination of pharmaceutical dosage forms, requires a prior treatment on quantification of substances individually due to differences in its pharmacology properties. Due to increasing production of these drugs need to be offset by increasing the quality control, so that the drug circulation can be guaranteed safely and effectively. It therefore requires both an accurate analysis method and simple and cheap on quantification of active compounds. One of the simple and cheap methods is TLC video densitometry. The aim of the research was validating TLC video densitometry in determining content of combination of loratadine and pseudoephedrine HCl. The experimental involved: conformation system of resolution was performed by using a TLC plate GF<sub>254</sub> as stationary phase and vary in combination of methanol-ammonia as mobile phase; validation of analytical method, and quantification of loratadine and pseudoephedrine HCl in combination of pharmaceutical dosage forms. Image capturing was carried out under UV lamp at 255 nm by using an apparatus of TLC Video Densitometry and AUC of the spots was generated by using a TLC Analyzer software. Application of samples was done by using a*

*capillary pipe manually. The conformance system results showed that the value of  $R_f$  for loratadine and pseudoefedrine HCl of 0.84 and 0.35, respectively. The linearity of curve for loratadine and pseudoefedrine was  $Y = 0.3003X - 715.94$  and  $Y = 6.8705X + 222.86$ , respectively. The parameters of analytical validation methods was meet of all requirements. The result showed that the content of loratadine and pseudoefedrine in samples were 99.42% and 101%, respectively. According to the parameter of analytical validation methods and the result, so that TLC videodensitometry method was feasible to use in quantification of loratadine and pseudoefedrine.*

**Keywords:** *Capsul, loratadine, pseudoefedrine HCl, TLC video densitometry, validation method.*

## PENDAHULUAN

Rinitis alergi merupakan penyakit inflamasi yang banyak ditemukan dan merupakan masalah kesehatan global. Penyakit ini ditemukan di seluruh dunia yang diderita sedikitnya 10-25% populasi dan prevalensinya terus meningkat. Di Indonesia prevalensi 40% anak-anak, 10-30% dewasa. Prevalensi terbesar pada usia 15-30 tahun (Bousquet, J., dkk., 2000).

Loratadin dikombinasikan dengan pseudoefedrin HCl agar dapat mengurangi gejala yang ditimbulkan oleh rinitis alergi seperti menghilangkan kongesti dan tekanan hidung / sinus dan / atau gejala lain (misalnya bersin, lakrimasi, gatal mata, batuk, demam). Manfaat kombinasi antihistamin dan dekongestan akan lebih baik dibandingkan pemakaian tunggal (Katzung, BG., dkk., 2007). Sifat kelarutan kedua zat aktif tersebut sama yaitu larut dalam alkohol sehingga pseudoefedrin HCl dapat dikombinasikan dengan loratadin. Pseudoefedrin HCl dengan kadar 120 mg sedangkan loratadin 5 mg digunakan dalam kombinasi obat untuk penyakit rinitis alergi (ISO, 2011).

Banyak sediaan kombinasi tidak memenuhi persyaratan terapi rasional dan tak tepat sasaran (Mutschler, 1999). Menyadari hal tersebut, bahwa kadar zat aktif yang tidak memenuhi persyaratan dapat membahayakan para konsumen. Untuk itu diperlukan suatu analisis untuk penentuan kadar menggunakan metode analisis kimia yang akurat.

Pertimbangan metode analisis yang dipilih dalam penentuan kadar suatu zat aktif adalah mudah dan memenuhi persyaratan yang ditentukan oleh suatu standar/regulasi. Loratadin dan pseudoefedrin HCl ini sebelumnya telah dilakukan analisis menggunakan

metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Clarke, 2005). Metode yang saat ini banyak digunakan adalah KCKT yang dapat menganalisis berbagai sediaan multi komponen dengan hasil yang baik dalam kondisi analitik yang optimum (Damayanti, dkk., 2003) tetapi peralatannya membutuhkan spesifikasi pelarut dengan *grade* KCKT.

Penelitian ini menggunakan metode KLT video densitometri. Metode ini dapat dikembangkan sebagai metode alternatif dari metode KCKT dan menjadi alternatif bagi keterbatasan spektrofotometri UV. KLT densitometri merupakan bentuk yang modern dari KLT umum yang hanya bertujuan untuk analisis kualitatif. Sedangkan KLT video densitometri merupakan metode analisis kualitatif dan kuantitatif mengkuantisasi bercak berdasarkan analisis gambar.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Alat

Pipa kapiler volumetrik 5  $\mu$ L, *chamber*, lampu UV 254 nm dan 366 nm, kamera digital dengan merk SONY ALPHA tipe A5100, perangkat lunak TLC Analyzer, neraca analitik, mortar, stamper, gelas kimia 500 mL, gelas kimia 250 mL, gelas kimia 100 mL, pipet volume 1 mL, pipet volume 2 mL, pipet ukur 1 mL, labu ukur 100 mL, labu ukur 50 mL, labu ukur 10 mL, gelas ukur 100 mL, gelas ukur 10 mL, *hairdryer* dan corong.

### Bahan

Plat silika gel GF<sub>254</sub>, baku loratadin, baku pseudoefedrin HCl, sampel sediaan tablet kombinasi loratadin dan pseudoefedrin HCl, metanol p.a, etil asetat teknis, kloroform p.a dan larutan ammonia kuat teknis.

### **Preparasi larutan induk dan larutan baku loratadin dan pseudoefedrin HCl**

Larutan induk loratadin dan pseudoefedrin HCl disiapkan konsentrasi loratadin 1.000 bpj dan pseudoefedrin HCl 10.000 bpj dalam pelarut metanol. Kemudian dipreparasi larutan baku kerja dengan konsentrasi baku loratadin adalah 500 bpj; 520 bpj; 540 bpj; 560 bpj; 580 bpj dan 600 bpj, sedangkan konsentrasi baku pseudoefedrin HCl adalah 5.000 bpj; 5.200 bpj; 5.400 bpj; 5.600 bpj; 5.800 bpj dan 6.000 bpj.

### **Penyiapan fase diam**

Untuk pemisahan loratadin dan pseudoefedrin HCl digunakan plat KLT silika gel GF<sub>254</sub> dengan volume 4 µL larutan sampel dan larutan baku secara duplo.

### **Penyiapan fase gerak**

Dilakukan optimasi fase gerak, disiapkan fase gerak sebanyak 10 mL berupa beberapa komposisi campuran metanol dan ammonia. Dipilih komposisi fase gerak yang mempunyai nilai Rf sebesar 0,2-0,8.

### **Penampak bercak dan perekaman bercak**

Plat kering divisualisasikan di bawah sinar UV pada 254 nm. Senyawa yang dianalisis akan menghasilkan bercak-bercak. Gambar direkam menggunakan kamera digital merk SONY ALPHA tipe A5100 dengan resolusi 6000×4000 piksel dan disimpan sebagai file.

### **Analisa kromatogram**

File gambar yang telah direkam atau disimpan selanjutnya dianalisis menggunakan perangkat lunak TLC Analyzer. Dihitung konsentrasi setiap bercak dan diatur jarak scan/pemindaian (dari titik penotolan sampel sampai tanda batas pengembangan).

### **Validation**

Metode divalidasi sesuai dengan petunjuk *International Conference on Harmonization* (ICH) untuk validasi metode analitik meliputi spesifisitas, linieritas, LOD, LOQ, presisi, akurasi, dan perolehan kembali (ICH, 2005). Hasilnya dinyatakan dalam bentuk persentase.

### **Preparasi larutan sampel**

Ditimbang secara akurat sampel kapsul (sebanyak 10 buah kapsul) dengan komposisi per kapsul adalah 5 mg loratadin dan 120 mg pseudoefedrin HCl dan dilarutkan dalam 50 mL metanol. Larutan ini diencerkan sesuai dalam rentang konsentrasi kurva kalibrasi dari loratadin dan pseudoefedrin HCl.

Selanjutnya sebanyak 4 µL masing-masing larutan sampel ditotolkan secara triplo pada plat KLT yang telah disiapkan dan dikembangkan dalam *chamber* yang telah dijenuhkan dengan fase gerak. Selanjutnya dilakukan visualisasi dan pengambilan gambar plat dan analisis kromatogram sehingga diperoleh nilai AUC (*Area Under Curve*) dan dihitung kadar dari sampel.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Kerangka utama dari penelitian ini dibagi menjadi tiga yaitu uji kesesuaian sistem, validasi metode, dan penetapan kadar campuran loratadin dan pseudoefedrin HCl dalam sediaan kombinasi yang beredar di pasaran.

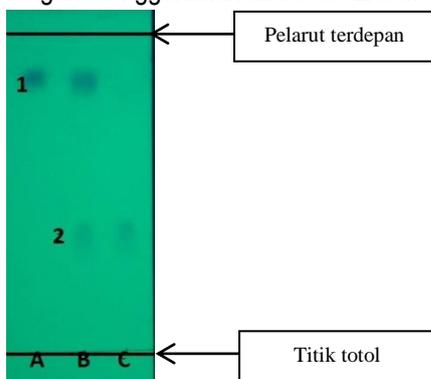
Parameter yang digunakan dalam uji kesesuaian sistem menggunakan metode KLT adalah Rf. Nilai Rf diusahakan sedemikian rupa sehingga diperoleh nilai antara 0,2-0,8 dengan cara memvariasikan kombinasi dan komposisi fase gerak. Visualisasi bercak pada KLT dilakukan menggunakan lampu UV 254 nm. Selanjutnya, bercak pada plat KLT silika gel GF<sub>254</sub> yang sudah berflourisensi direkam/video menggunakan kamera *mirrorless*. Gambar hasil perekaman selanjutnya dianalisis menggunakan perangkat lunak *TLC Analyzer* (Hess, 2007). Setelah didapatkan uji kesesuaian sistem, selanjutnya dilakukan validasi metode analisis. Pengukuran menggunakan metode KLT video densitometri akan dibandingkan dengan nilai yang tertera pada etiket dan akan diuji secara statistik.

### **Uji kesesuaian sistem**

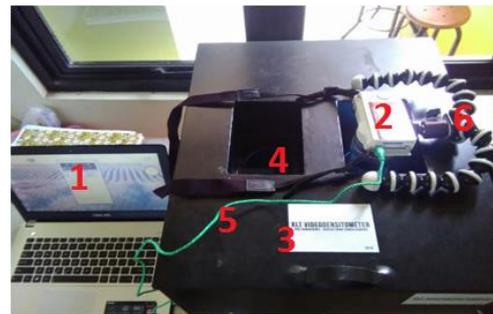
Uji kesesuaian sistem dilakukan dengan mengorientasi fase gerak dalam mengatur resolusi dari bercak loratadin dan pseudoefedrin HCl pada plat silika gel GF<sub>254</sub>. Parameter yang digunakan dalam uji kesesuaian sistem adalah nilai Rf dari baku

pembandingan loratadin dan pseudoefedrin HCl. Rentang nilai Rf, nilai Rf yang baik untuk pengukuran menggunakan KLT video densitometri adalah 0,2 - 0,8 (Kealey, dkk., 2002); dikarenakan nilai Rf di bawah atau di atas rentang tersebut akan memberi gangguan terhadap visualisasi bercak yang berasal dari pelarut. Setelah dicoba berbagai kombinasi fase gerak untuk pemisahan campuran loratadin dan pseudoefedrin HCl sesuai ada pada literature antara lain antara lain etil asetat, kloroform, metanol, dan amonia (Clarke, 2005); diperoleh fase gerak yang baik yang sesuai dengan rentang nilai Rf adalah kombinasi fase gerak yang digunakan metanol:amonia (10:4 tetes, v/v) (Gambar 3). Pola bercak setelah dielus adalah dua bercak dengan Rf loratadin dan pseudoefedrin HCl berturut-turut adalah 0,84 (bentuk bercak pipih) dan 0,35 (bentuk bercak bulat) dengan volume penotolan 4  $\mu$ L.

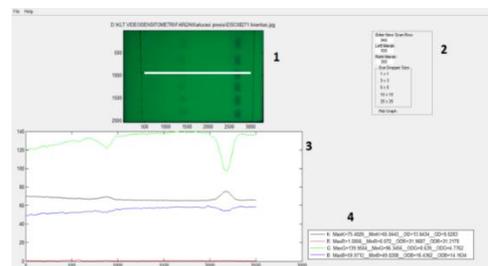
Bercak pada plat silika gel GF<sub>254</sub> selanjutnya direkam dan dianalisis menggunakan perangkat lunak TLC Analyzer (Gambar 4 dan 5). Kromatogram yang dipilih adalah *baseline* yang berwarna hijau karena menghasilkan bentuk dan respon puncak yang paling baik. Selanjutnya dilakukan perhitungan nilai luas area dengan menggunakan *Microsoft Excel*.



Gambar 3. Visualisasi bercak pada kondisi optimum pemisahan campuran loratadin dan pseudoefedrin HCl. Fase gerak: metanol:amonia (10:4 tetes, v/v); Fase diam: Silika gel GF<sub>254</sub>; Bercak: loratadin (1) dan pseudoefedrin HCl (2); dan Titik total: loratadin tunggal (A), sediaan campuran loratadin dan pseudoefedrin HCl (B), pseudoefedrin HCl tunggal (C).

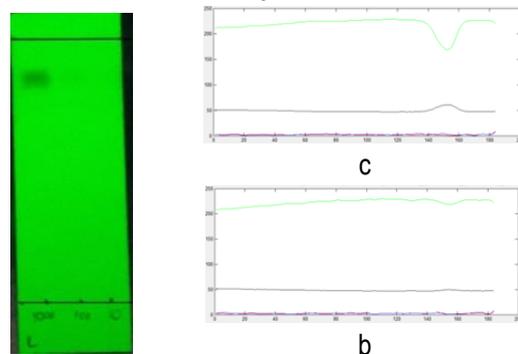


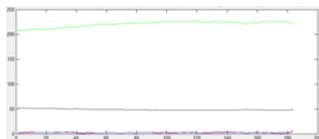
Gambar 4. Rangkaian peralatan KLT video densitometri. Perangkat lunak TLC Analyzer (1), kamera (2), kotak lampu UV (3), UV filter (4), kabel usb (5), dan penyangga kamera (6).



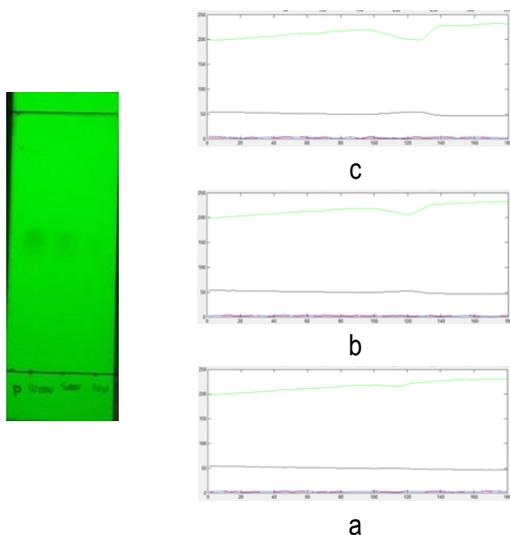
Gambar 5. Visualisasi pengukuran densitas bercak menggunakan perangkat lunak TLC Analyzer. Gambar plat (1), setting pemindaian (2), kurva konversi bercak (3), dan nilai maksimum dan minimum dari setiap kurva konversi (4).

Untuk mendapat konsentrasi minimum analit dari respon luas di bawah kurva yang mampu dihasilkan oleh perangkat lunak yang digunakan (Gambar 6), dilakukan variasi konsentrasi penolotolan sehingga diperoleh nilai minimum konsentrasi loratadin dan pseudoefedrin HCl. Konsentrasi minimum penotolan loratadin dan pseudoefedrin HCl berturut-turut adalah 100 dan 5.000 ppm dengan volume penotolan 4  $\mu$ L.





Gambar 6. Respon luas area puncak (AUC) terhadap densitas bercak loratadin pada berbagai konsentrasi 10 (a), 100 (b), dan 1000 (c) bpj dengan volume penotolan 4  $\mu$ L; dan fg: metanol:amonia (10:4 tetes, v/v).



Gambar 7. Respon luas area puncak (AUC) terhadap densitas bercak pseudoefedrin HCl pada berbagai konsentrasi 1.000 (a), 5.000 (b), dan 10.000 (c) bpj dengan volume penotolan 4  $\mu$ L; dan fg: metanol:amonia (10:4 tetes, v/v).

### Validasi metode

Validasi metoda analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk memperoleh parameter validasi yang memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004).

#### 1. Selektivitas

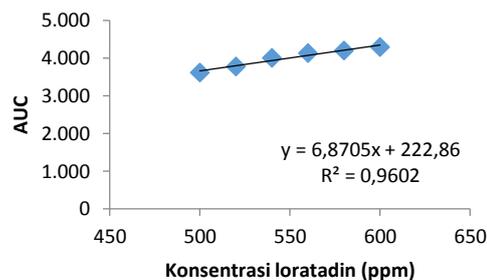
Parameter selektifitas dilakukan dengan membandingkan  $R_f$  baku terhadap  $R_f$  sampelnya. Didapatkan hasil  $R_f$  dari baku dan sampel yang sejajar (Gambar 3) baik untuk senyawa loratadin ( $R_f = 0,84$ )

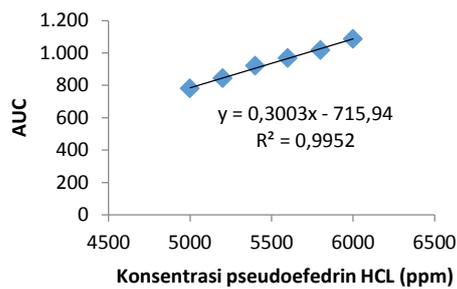
maupun pseudoefedrin HCl ( $R_f = 0,35$ ) maka dapat disimpulkan baku dan sampel ini adalah senyawa loratadin dan pseudoefedrin HCl. Nilai  $R_f$  untuk Pseudoefedrin HCl menggunakan fase gerak tersebut adalah 0,33 (Clarke, 2011) sedangkan untuk campuran loratadin dan Pseudoefedrin HCl menggunakan fase gerak Etil acetat–metanol–amonia 33%; (15:0.3:2), v/v/v berturut-turut adalah 0,79 dan 0,13 (El-Kommos dkk., 2014).

Setelah parameter selektifitas dan konsentrasi minimum penotolan diperoleh maka analisis ini dapat diteruskan ke uji validasi selanjutnya.

#### 2. Linearitas

Linearitas adalah kemampuan metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linearitas diperoleh dengan cara membuat kurva kalibrasi hasil plot serangkaian konsentrasi terhadap respon puncak. Uji ini dilakukan dengan mengukur enam konsentrasi dari larutan baku loratadin dan pseudoefedrin HCl. Konsentrasi kurva baku yang digunakan untuk persamaan kurva baku loratadin adalah 2  $\mu$ g/spot; 2,08  $\mu$ g/spot; 2,16  $\mu$ g/spot; 2,24  $\mu$ g/spot; 2,32  $\mu$ g/spot dan 2,4  $\mu$ g/spot. Sedangkan konsentrasi kurva baku untuk persamaan kurva baku pseudoefedrin HCl adalah 20  $\mu$ g/spot; 20,8  $\mu$ g/spot; 21,6  $\mu$ g/spot; 22,4  $\mu$ g/spot; 23,2  $\mu$ g/spot dan 24  $\mu$ g/spot. Setelah dilakukan pengembangan menggunakan plat silika gel GF254 dan direkam gambar bercak pada plat KLT dan gambar yang diperoleh dianalisis menggunakan perangkat lunak *TLC Analyzer*. Hasil perhitungan luas dibawah kurva (AUC) setiap konsentrasi dari pemisahan KLT campuran baku tersebut dibuat persamaan regresi linier (Gambar 7).





Gambar 7. Kurva baku dari respon luas area puncak (AUC) terhadap konsentrasi penotolan baku loratadin dan pseudoefedrin HCl.

Berdasarkan data yang diperoleh diketahui bahwa nilai koefisien korelasi determinasi untuk loratadin dan pseudoefedrin HCl berturut-turut adalah 0,9602 dan 0,9952. Persamaan kurva baku yang didapatkan untuk loratadin adalah  $y = 6,8705x + 222,86$ , sedangkan untuk pseudoefedrin HCl adalah  $y = 0,3003x - 715,94$ . Koefisien determinasi menggambarkan kedekatan titik dengan garis linear, semakin dekat titik dengan garis berarti semakin dekat hubungan korelasinya. Nilai  $r^2$  yang mendekati satu maka berarti kenaikan konsentrasi kurva baku sebanding dengan kenaikan AUC tersebut (De Muth, 1999). Hal ini menunjukkan bahwa metode KLT video densitometri ini telah memenuhi persyaratan parameter linearitas yaitu dengan nilai koefisien determinasi mendekati satu dan dapat digunakan dalam menetapkan kadar campuran loratadin dan pseudoefedrin HCl.

### 3. Batas deteksi dan batas kuantisasi

Persamaan garis regresi linear yang diperoleh juga digunakan untuk menghitung Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantitasi (BK). Nilai BK adalah konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi sedangkan nilai BD adalah jumlah analit terkecil dalam sampel yang dapat ditentukan secara kuantitatif pada tingkat akurasi dan presisi yang baik. Untuk hasil pengujian batas deteksi dan batas kuantisasi dari data didapatkan nilai batas deteksi untuk loratadin dan pseudoefedrin HCl berturut-turut adalah sebesar 25,55 dan 86,91, dengan nilai batas kuantisasinya berturut-turut adalah 85,18 dan 289,71.

Koefisien variasi fungsi yang didapat telah memenuhi persyaratan karena nilainya kurang dari 2% yaitu untuk loratadin sebesar 1,55% sedangkan untuk pseudoefedrin HCl 0,53%.

### 4. Akurasi

Uji akurasi metode diperoleh dengan mengukur uji perolehan kembali yang dilakukan terhadap sampel simulasi pada konsentrasi 80%, 100% dan 120% dari konsentrasi aktual loratadin dan pseudoefedrin HCl dalam sampel. Hasil perhitungan uji akurasi dinyatakan dalam % perolehan kembali (% *recovery*). Sampel simulasi menggunakan komposisi zat aktif, laktosa, amilum dan talkum.

Tabel 1. Akurasi Pseudoefedrin HCl dan Loratadin

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Akurasi		
		Rataan* AUC	% <i>recovery</i>	Rata-rata* % <i>Recovery</i> ± %KV
Pseudoefedrin HCl	80%	5279,61	98,20 %	98,20% ± 0,09%
	100%	5675,59	98,54%	98,54% ± 0,07%
	120%	5889,42	98,32%	98,32% ± 0,13%
Loratadin	80%	511,5	99,85%	99,85% ± 0,71%
	100%	554,70	99,06%	99,06% ± 0,11%
	120%	573,26	99,52%	99,52% ± 0,16%

\*Rataan dari 6 kali perulangan data

Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa untuk loratadin diperoleh rata-rata % *recovery* ± % RSD untuk konsentrasi sampel simulasi 80%; 100% dan

120% secara berturut-turut adalah  $99,85\% \pm 0,71\%$ ;  $99,06\% \pm 0,11\%$  dan  $99,52\% \pm 0,16\%$ . Untuk pseudoefedrin HCl diperoleh rata-rata % *recovery*  $\pm$  % RSD konsentrasi sampel simulasi 80%; 100% dan 120% secara berturut-turut adalah  $98,20\% \pm 0,09\%$ ;  $98,54\% \pm 0,07\%$  dan  $98,32\% \pm 0,13\%$ . Hasil yang diperoleh telah memenuhi syarat uji akurasi sesuai dengan persyaratan validasi metode, yaitu nilai % *recovery* berada pada rentang 98-102% dan % KV < 5% (Harmita, 2004).

#### 5. Presisi

Presisi merupakan gambaran kedekatan hasil pengukuran satu dengan lainnya dalam kondisi analisis yang sama. Presisi dapat diukur dengan parameter % KV (*coefficient of variation*). Pada uji presisi dilakukan dengan menggunakan metode sampel simulasi 100% secara *intraday* dan diukur nilai respon luas puncak (AUC). Diperoleh nilai % KV uji presisi dan presisi antara untuk pseudoefedrin HCl secara berturut-turut adalah 0,07%, dan 0,32% dan untuk loratadin secara berturut-turut 0,37%, dan 0,39%. Hasil yang diperoleh telah memenuhi syarat uji presisi, yaitu nilai % KV < 5%.

#### Penetapan kadar sampel

Setelah dilakukan validasi metode dan semua parameternya memenuhi persyaratan maka selanjutnya metode yang telah dikembangkan digunakan untuk penetapan kadar campuran loratadin dan pseudoefedrin HCl dalam sediaan. Sampel yang digunakan adalah sediaan kapsul granul obat rinitis alergi dengan bobot perkapsul yaitu 595,8 mg, mengandung loratadin 5 mg dan pseudoefedrin HCl 120 mg.

Pengukuran kadar loratadin dan pseudoefedrin HCl dalam sediaan tablet ini diberikan perlakuan yang sama dengan perlakuan pada sampel simulasi tablet. Penotolan sampel pada plat KLT dilakukan secara triplo kemudian diukur AUC dari bercak dan dilakukan rata-rata AUC. Setelah dilakukan analisis menggunakan perangkat lunak *TLC Analyzer*, kromatogram yang dipilih *baseline* yang berwarna hijau karena menghasilkan bentuk puncak yang paling baik. Selanjutnya dilakukan perhitungan nilai luas area

dengan menggunakan *Microsoft Excel* sehingga diperoleh rata-rata nilai AUC untuk loratadin dan pseudoefedrin HCl berturut-turut adalah 4082,71 dan 924,403.

Nilai rata-rata AUC tersebut selanjutnya dikonversikan menjadi kadar loratadin dan pseudoefedrin HCl dalam sediaan kapsul yaitu untuk loratadin sebesar 5,05 mg (101%), sedangkan untuk pseudoefedrin HCl sebesar 119,304 mg (99,42%). Nilai kadar yang diperoleh memenuhi syarat yang telah ditetapkan menurut Farmakope Indonesia Edisi IV dan Edisi V yaitu untuk loratadin tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% sedangkan untuk pseudoefedrin HCl tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 100,5% dari jumlah yang tertera pada etiket. Penetapan kadar yang diperoleh sejalan dengan menggunakan HPTLC pada penelitian lain dengan nilai adalah 99,48% (loratadin) (El Ragehy dkk, 2002) dan 99,26% (pseudoefedrin HCl) (Makhija and Vavia, 2001) walaupun memiliki nilai yang mendekati tetapi RSD menggunakan HPTLC memiliki nilai yang lebih baik. Hal ini dimungkinkan karena HPTLC menggunakan plat yang jauh lebih baik dalam kinerja pemisahan.

#### KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah penetapan kadar campuran loratadin dan pseudoefedrin HCl dalam sediaan kapsul kombinasi menggunakan metode KLT video densitometri telah memenuhi nilai-nilai parameter validasi sehingga layak untuk digunakan untuk penetapan kadar campuran loratadin dan pseudoefedrin HCl dalam sediaan kapsul kombinasi.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Adamovics, J.A., (1997), *Chromatographic Analysis of Pharmaceuticals*, New York: Marcel Dekker, 2nd Edition, 231.
- Bousquet, J., Cauwenberge, P., Khaltaev, N., Bachert, C., Durham, S. R., Lund, V. dan Mygind, N., (2000), *WHO Initiative Allergic Rhinitis and Its Impact on Asthma (ARIA)*.
- Clarke, A. M., Osselton, M. D., dan Widdop, Brian., (2004), *Clarke's Analysis Of Drug and Poisons*.

- Fourth edition London: Pharmaceutical Press. Electronic version.
- Darwish, A. F., Abou Donia, H. A., Toaima, M. S. dan Shawkly, E., (2014), A new approach to develop a standardized method for assessment of acetylcholinesterase inhibitory activity of different extracts using HPTLC and image analysis, *Journal of Chromatography B*, 1-8.
- De Muth, J.E., (1999), *Basic Statistic and Pharmaceutical Statistical Applications*, Marcel Dekker, Inc., New York, USA, pp. 295-364.
- Dibbern, H. W., Muller, R. M., dan Wirbitzki, E., *UV and IR Spectra Pharmaceutical Substances (UV and IR) and Pharmaceutical Cosmetics Excipients (IR)*, 2002, 515.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan RI, (1995), *Farmakope Indonesia, Jilid IV*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 718.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan RI, (2014), *Farmakope Indonesia, Jilid V*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 777.
- Departemen Farmakologi dan Terapeutik FK UI., (2007), *Farmakologi dan Terapi Edisi V*. Jakarta: Departemen Percetakan Farmakologi dan Terapeutik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 74, 273-281.
- El-Kommos, M. E., El-Gizawy, S. M., Atia, N. N. and Hosny, N. M. (2014), Thin layer chromatography–densitometric determination of some non-sedating antihistamines in combination with pseudoephedrine or acetaminophen in synthetic mixtures and in pharmaceutical formulations. *Biomed. Chromatogr.*, 28: 391–400. doi:10.1002/bmc.3033.
- El Ragehy NA, Badawey AM and El Khateeb SZ. Stability indicating methods for the determination of loratadine in the presence of its degradation product. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2002; 28: 1041–1053.
- ICH. Harmonized Tripartite Guideline: Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, Q2 (R1). International Conference on Harmonization: Geneva, 2005. Available from: <http://www.ich.org>.
- Harmita, (2004), Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1, 3, 1-19.
- Hess, Amber., Victoria, Irish., (2007), Digitally-Enhanced Thin-Layer Chromatography: An Inexpensive, New Technique for Qualitative and Quantitative Analysis." *J. Chem. Educ.*, 84, 842.
- I.D. Wilson, E.R. Adlard, M. Cooke, C.F. Poole (Editors), (2000), *Encyclopedia of Separation Science*, Academic Press, 824-930.
- ISO, (2011), *Informasi Spesialite Obat*, Jakarta: Penerbit PT. Otsuka Indonesia, Volume 46.
- Johnsson, R., Traff, G., Sunden, M., dan Ellervikm U., Evaluation of quantitative thin layer chromatography using staining reagents, *Journal of Chromatography A*, Volume 1164, Issues 1-2, 14 September 2007, Pages 298-305.
- Jork, H., Funk, W., Fischer, W., dan Wimmer, H., (1990), *Thin-Layer Chromatography, Reagents and Detection Methods*. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft mbH, 3-7.
- Kealey, D., dan Haines, P. J., (2002) *Instant Notes: Analytical Chemistry*, BIOS Scientific Publishers Limited, New York, 1423.
- Kurniawan, C., Waluyo, T. B., Sebayang, P., (2011), *Analisis Ukuran Partikel Menggunakan Free Software ImageJ*, Serpong; Pusat Penelitian Fisika, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
- Makhija SN and Vavia PR. Stability indicating HPTLC method for the simultaneous determination of pseudoephedrine and cetirizine in pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2001; 25: 663–667.
- Nahrawi, Munasir, Z., Latief, A., (2008), *Efektivitas dan Keamanan Kombinasi Terfenadin dan Pseudoefedrin pada Anak Rinitis Alergika*, Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia RS Dr. Cipto Mangunkusumo, 299-300.
- Pavalache, G., Dorneanu, V., dan Popescu, A., (2010), Determination of Loratadin by UV

- Molecular Absorption Spectrometry, Romania: Departement of Pharmacy, Ovidius University of Constanta, **21**, 1-4.
- Phattanawasin, P., Sotaphun, U., Sukwattanasinit, T., Akkarawarantohn, J., dan Kitchaiya, S., (2012), Quantitative determination of sibutramine in adulterated herbal slimming formulations by TLC-image analysis method, *Forensic Science International*, 1-5.
- Popovic, G., Cakar, M., dan Agbaba, D., (2007), Simultaneous Determination of Loratadin and Preservatives in Syrups by Thin-Layer Chromatograph, *Acta Chromatographica*, 19, 1-9.
- Reich, E dan Jaenchen, D. E., (2002), *Instrumentation* Camag. Muttenz. Switzerland. Academy press, 843.
- Sherma, J. dan Popovic, N.,(2014), Comparative study of the quantification of thin-layer chromatograms of a model dye using three types of commersials densitometers and image analysis with ImageJ, Departement of Chemistry Lafayette College, 1-8.
- Skoog, D. A., West, D. M.dan Holler, F. J., (1996), *Fundamentals of Analytical Chemistry.*, New York: Saunders College Publishing, 7th edition, 17-25.
- Soponar, F., Mot, A. C. dan Sarbu, C., (2009), Quantitative evaluation of paracetamol and caffeine from pharmaceutical preparations using image analysis and RP-TLC, *Journal of Chromatography*, 151-155.
- Stahl, E. (1985). *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*, ITB: Bandung.
- Yuangsoi, B., Jintataporn, O., Areechon, N., dan Tabthipwon, (2008), P.,Validated TLC-densitometric analysis for determination of carotenoids in fancy carp (*Cyprinus carpio*) serum and the application for pharmacokinetic parameter assessment, *Songklanakarin J. Sci. Technology*, 30(6), 693-700.