

---

# PENGEMBANGAN, VALIDASI, DAN APLIKASI METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI UNTUK ANALISIS PARASETAMOL, GUAIFENESIN, DAN KLORFENIRAMIN MALEAT DALAM SIRUP

Tri Wahyuni<sup>1</sup>, Aqnes Budiarti<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim, Indonesia  
Jl. Raya Manyaran-Gunungpati, Semarang 50224.

<sup>1\*</sup>Email: aqnesbudiarti@unwahas.ac.id

## Abstrak

*Kombinasi parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat dan sering digunakan untuk meringankan gejala flu dan batuk pada anak-anak. Penetapan kadar ketiga senyawa dalam sediaan memerlukan metode yang simultan dan valid, salah satunya yaitu metode analisis KCKT. Tujuan penelitian ini adalah validasi metode KCKT untuk analisis campuran parasetamol, guaifenesin dan klorfeniramin maleat serta mengaplikasikannya dalam sediaan sirup flu dan batuk. Pengembangan metode analisis dilakukan pada aspek panjang gelombang deteksi dan komposisi fase gerak. Penelitian ini menggunakan KCKT (Jasco) dengan detektor UV-Vis pada panjang gelombang 265 nm, fase diam C<sub>18</sub> berukuran 125 mm x 4,6 mm dan fase gerak berupa campuran metanol: air: asetonitril (75:15:10 v/v/v) dengan laju alir 1 mL/menit. Uji validasi meliputi parameter linieritas, akurasi, presisi, selektivitas, dan sensitivitas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode analisis dapat dikembangkan dan tervalidasi dengan memenuhi semua persyaratan parameter yang diujikan serta dapat diaplikasi pada sirup obat batuk. Uji validasi pada parameter linieritas menunjukkan metode linier untuk analisis ketiga senyawa dengan nilai koefisien korelasi parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin berturut-turut adalah 0,999; 0,998; dan 0,999 ( $r > 0,995$ ). Uji presisi ketiga senyawa menghasilkan nilai %RSD  $\leq 2\%$ . Uji akurasi menghasilkan nilai perolehan kembali yang baik pada rentang 98-102%. Uji selektivitas menghasilkan pemisahan yang baik dengan nilai daya resolusi  $\geq 1,5$ . Uji sensitivitas menghasilkan nilai LOD dan LOQ parasetamol sebesar 2,20  $\mu\text{g/mL}$  dan 7,33  $\mu\text{g/mL}$ , LOD dan LOQ guaifenesin sebesar 1,27  $\mu\text{g/mL}$  dan 4,24  $\mu\text{g/mL}$ , serta LOD dan LOQ klorfeniramin maleat sebesar 0,05  $\mu\text{g/mL}$  dan 0,18  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil penetapan kadar parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat menggunakan metode yang telah dikembangkan berturut-turut adalah 100,36%, 100,25% dan 100,04%. Kandungan ketiga senyawa memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia.*

**Kata kunci:** KCKT-UV, validasi metode analisis, parasetamol, guaifenesin, klorfeniramin.

## PENDAHULUAN

Kombinasi parasetamol, guaifenesin dan klorfeniramin maleat sering digunakan untuk meringankan gejala flu dan batuk pada anak-anak. Parasetamol merupakan golongan analgesik dan antipiretik yang digunakan untuk mengatasi gejala demam atau sakit kepala pada flu. Guaifenesin merupakan golongan ekspektoran yang berfungsi membantu mengencerkan dahak pada batuk kering. Klorfeniramin maleat merupakan golongan antihistamin yang berfungsi untuk mengatasi gejala flu disertai bersin (Tjay & Rahardja 2007).

Pemastian mutu sediaan farmasi yang mengandung parasetamol, guaifenesin dan klorfeniramin maleat memerlukan metode analisis yang simultan, selektif dengan ketelitian dan ketepatan yang memenuhi persyaratan validitas. Ketiga senyawa aktif ini bersifat polar dan memiliki polaritas yang tidak sama sehingga dapat dipisahkan dengan sistem kromatografi dalam waktu yang relatif singkat. Salah satu sistem kromatografi yang memiliki kelebihan sesuai yang dibutuhkan tersebut adalah Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). KCKT merupakan salah satu metode analisis yang mempunyai beberapa kelebihan, diantaranya adalah simultan, selektif, sensitif, cepat dan praktis (Gandjar & Rohman 2010). Disamping itu, parasetamol, guaifenesin dan klorfeniramin maleat memiliki gugus kromofor sehingga dapat dideteksi dengan detektor UV-Vis yang dipasangkan pada KCKT.

Metode KCKT seperti halnya metode analisis yang lain haruslah bersifat valid agar hasil kerjanya sesuai dengan tujuan analisis. Dengan demikian, untuk menjamin metode analisis yang digunakan akurat, spesifik, reproduibel dan tahan pada kisaran kadar senyawa yang akan di analisis

maka metode analisis yang telah dikembangkan perlu divalidasi (Gandjar & Rohman 2010). Parameter analisis yang perlu divalidasi untuk metode yang ditujukan untuk menetapkan kadar komponen utama dalam sediaan farmasi mengikuti ketentuan kategori satu yang meliputi linieritas, akurasi, presisi, selektivitas, dan sensitivitas (Lister, 2005).

Beberapa penelitian telah mengembangkan metode analisis parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat baik sebagai senyawa tunggal ataupun kombinasi dua senyawa. Namun demikian, belum banyak penelitian yang mengembangkan metode analisis ketiga bahan aktif secara simultan dan cepat. Boltia et al. (2019) mengembangkan metode analisis parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat menggunakan KCKT dengan fase diam  $C_{18}$  dan fase gerak berupa campuran natrium fosfat dan asetonitril (85:15, v/v). Penelitian menghasilkan metode yang dapat divalidasi pada parameter yang ditetapkan oleh ICH. Namun demikian, metode ini membutuhkan waktu analisis yang relatif lama untuk ketiganya yaitu rentang 10-15 menit. Selain itu, metode menggunakan penghantaran fase gerak tipe gradien dan detektor berupa dioda array sehingga tidak praktis ketika diaplikasikan pada KCKT tipe isokratik dengan detektor UV-Vis yang tersedia di banyak laboratorium pada umumnya.

Chengalva & Kuchana (2019) mengembangkan metode KCKT untuk analisis parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat dengan detektor UV pada panjang gelombang 220 nm. Fase diam yang digunakan adalah  $C_{18}$  dan fase gerak berupa campuran metanol, air dan asetonitril (10:75:15, v/v/v). Metode tervalidasi pada parameter linieritas, presisi, akurasi, dan ketahanan. Meskipun metode dapat diaplikasikan namun nilai resolusi antara parasetamol dan klorfeniramin kurang dari 1,5 sehingga metode tidak spesifik untuk memisahkan kedua zat aktif.

Budiarti & Afifah (2017) mengembangkan metode KCKT untuk analisis guaifenesin dan klorfeniramin maleat dengan detektor UV pada panjang gelombang 270 nm. Fase diam yang digunakan adalah  $C_{18}$  dan fase gerak berupa campuran metanol: air: asetonitril (75:15:10, v/v/v). Metode tervalidasi pada parameter linieritas, presisi, akurasi, dan ketahanan. Namun demikian, metode yang dikembangkan kurang sensitif dengan kadar kuantitasi terendah untuk guaifenesin adalah 3,07  $\mu\text{g/mL}$  dan untuk klorfeniramin maleat adalah 2,40  $\mu\text{g/mL}$ .

Ardiyanti et al. (2014) juga mengembangkan metode KCKT isokratik untuk analisis parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat. Metode analisis terdiri atas tiga metode yang terpisah untuk masing-masing zat aktif. Fase diam yang digunakan untuk analisis parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat masing-masing adalah  $C_8$ ,  $C_{18}$ , dan fenil. Sedangkan fase gerak untuk analisis parasetamol adalah metanol-air-asetonitril (40:60:1,5) untuk guaifenesin adalah metanol-air (60:40) dan untuk klorfeniramin adalah metanol-air-asetonitril (20:79:1, v/v/v). Kuantifikasi dicapai dengan deteksi UV masing-masing pada 280, 276 dan 214 nm. Meskipun ketiga metode tervalidasi namun tidak praktis karena tidak simultan.

Berdasarkan latar belakang masalah maka perlu dilakukan pengembangan metode analisis parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat yang valid, cepat dan praktis. Validasi meliputi parameter linieritas, spesifitas, sensitivitas, presisi dan akurasi. Fase diam yang digunakan adalah  $C_{18}$  dan fase gerak menggunakan tiga pelarut yaitu metanol, air dan asetonitril serta dioptimasi komposisinya berdasarkan hasil penelitian Boltia et al. (2019), Chengalva & Kuchana (2019), Budiarti & Afifah (2017) dan Ardiyanti et al. (2014). Metode analisis yang telah divalidasi ini kemudian diaplikasikan pada sediaan sirup batuk untuk memastikan mutu kadarnya sesuai dengan persyaratan Farmakope Indonesia.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Zat perbandingan parasetamol (Hebei Jiheng Pharmaceutical Co., Ltd.), guaifenesin (Gennex Laboratories Limited) dan klorfeniramin maleat (Supriya Lifescience Ltd.), aquabidest, metanol, asetonitril serta sampel tiga merek dagang sirup obat batuk yang kemasannya mencantumkan tiap 5 mL mengandung parasetamol 120 mg, guaifenesin 50 mg, dan klorfeniramin maleat 1 mg.

### Alat

Seperangkat KCKT tipe isokratik (Jasco) dilengkapi detektor UV-Vis, Pompa (PU 2080 plus), Kolom  $C_{18}$  (LiChroCART) (125 x 4 $\mu\text{m}$ ), Spektrofotometer UV/Vis (1800 Shimadzu), Syringe (Hamilton), pengolah data pada komputer (Ezchrom elite), membrane filter 0,45  $\mu\text{m}$  (Nylon), digital

---

ultrasonic cleaner (Jeken), mikropipet (Socorex), timbangan analitik (Ohaus), batang pengaduk dan alat-alat gelas (Pyrex).

### **Jalannya Penelitian**

#### **Pengumpulan Sampel**

Sampel sediaan sirup diambil dari tiga apotek di daerah Semarang. Variabel inklusi yang digunakan untuk memilih sampel adalah sampel dipastikan mengandung parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin berdasarkan keterangan pada kemasannya; tiga sampel berasal dari 3 merek yang berbeda serta satu apotek diambil satu sampel. Selanjutnya sampel diambil secara acak.

#### **Pembuatan Larutan Induk**

Bahan perbandingan parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat 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.

#### **Optimasi Panjang Gelombang Operasional**

Larutan induk parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat masing-masing diambil dan diencerkan dengan fase gerak hingga diperoleh konsentrasi 6 µg/mL. Masing-masing larutan discanning absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-400 nm. Titik potong ketiga spektra panjang gelombang digunakan sebagai panjang gelombang operasional (Snyder et al., 1997).

#### **Kondisi KCKT**

Tipe elusi fase gerak yang dijalankan adalah isokratik dengan laju dan komposisi tetap selama operasional. Suhu yang dipasang adalah suhu kamar yang secara otomatis akan disesuaikan oleh instrumen. Detektor yang digunakan adalah UV dengan panjang gelombang hasil optimasi. Volume injeksi 20 µL menyesuaikan dengan daya tampung loop injeksi pada KCKT yang digunakan.

#### **Optimasi Fase Gerak**

Fase gerak berupa larutan metanol, air dan asetonitril yang dioptimasi pada tiga perbandingan yaitu: 75:20:5; 75:15:10; 75:10:15, v/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 kromatogram (Utomo et al., 2025).

#### **Pembuatan Kurva Baku**

Larutan induk parasetamol dengan konsentrasi 1000 µg/mL dipipet sebanyak 100; 200; 300; 400; 500, dan 600 µL dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 mL yang berbeda. Larutan induk guaifenesin dengan konsentrasi 1000 µg/mL dipipet sebanyak 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5; dan 15 µL dimasukkan ke dalam masing-masing labu ukur yang telah berisi larutan parasetamol. Larutan induk klorfeniramin dengan konsentrasi 1000 µg/mL dipipet sebanyak 40; 80; 120; 160; 200; dan 240 µL dimasukkan ke dalam masing-masing labu ukur. Larutan ditambah fase gerak terpilih hingga tanda batas. Masing-masing larutan diinjeksikan ke dalam sistem KCKT dengan volume injeksi 20 µL. Luas area kromatogram dari masing-masing senyawa baku dibuat persamaan regresi linier  $y = bx + a$ , dimana  $y$  = luas area kromatogram dan  $x$  = konsentrasi. Replikasi masing-masing kurva baku dilakukan sebanyak 3 kali. Kurva baku dipilih dari persamaan regresi yang memiliki korelasi ( $r$ ) terbesar.

#### **Validasi Metode Analisis**

Metode analisis diuji validitasnya pada parameter linieritas, akurasi, presisi, selektivitas, dan sensitivitas. Uji linieritas dilakukan dengan menggunakan persamaan kurva baku yang telah dipilih. Persamaan regresi dianggap memenuhi syarat linieritas jika nilai korelasinya  $r \geq 0,995$  (ICH, 2005). Pengujian akurasi dilakukan dengan teknik penambahan standar, di mana larutan sampel ditambahkan dengan larutan standar pada konsentrasi 80%, 100%, dan 120% dari kadar parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat. Replikasi dilakukan sebanyak tiga kali, kemudian dihitung persentase rekoverti (Lister, 2005).

Uji presisi dilakukan dengan larutan yang mengandung parasetamol pada konsentrasi 2, 6, dan 8 µg/mL, guaifenesin pada konsentrasi 0,5, 1,5, dan 2 µg/mL, serta klorfeniramin maleat pada konsentrasi 7,5, 22,5, dan 30 µg/mL, masing-masing larutan disaring menggunakan membran nylon

berpori 0,45  $\mu\text{m}$  kemudian disuntikkan ke dalam sistem KCKT dengan volume injeksi 20  $\mu\text{L}$ . Proses ini diulang sebanyak enam kali, dan presisi diukur menggunakan persentase deviasi relatif (% RSD), di mana nilai % RSD  $\leq 2\%$  dianggap memenuhi syarat (Gonzales et al., 2010).

Selektivitas metode ditentukan dengan menghitung nilai resolusi (R) antara puncak-puncak kromatogram ketiga senyawa, yang kemudian dibandingkan dengan standar minimal  $R > 1,5$  (Harmita, 2004). Sementara itu, uji sensitivitas dilakukan dengan menggunakan persamaan regresi linier dari kurva standar terpilih, dimana nilai Y dan kemiringan garis (slope) dihitung. Batas deteksi (LOD) ditentukan berdasarkan rumus  $Y = YB + 3SB$ , dan batas kuantifikasi (LOQ) dihitung dengan rumus  $Y = YB + 10SB$ . Metode dinilai semakin sensitif apabila nilai LOD dan LOQ yang diperoleh semakin kecil (Gandjar dan Rohman, 2010).

### Penetapan kadar Parasetamol, Guaifenesin, dan Klorfeniramin Maleat

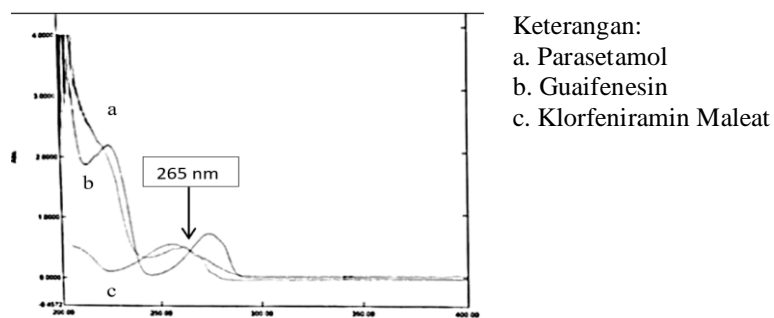
Sampel sediaan sirup diambil 1,0 mL dengan mikropipet lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml kemudian dilarutkan dengan fase gerak sampai tanda batas. Larutan sampel dihilangkan gasnya dengan ultrasonikator selama 15 menit kemudian disaring dengan membran filter 0,45  $\mu\text{m}$ . Larutan 20  $\mu\text{L}$  diinjeksikan ke dalam sistem KCKT pada panjang gelombang terpilih dengan laju alir 1,0 mL/menit. Replikasi 6 kali (Snyder et al. 1997). Kadar parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat ditetapkan dengan cara luas area puncak kromatogram ketiga senyawa diekstrapolasikan ke persamaan kurva baku masing-masing senyawa aktif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Penentuan Panjang Gelombang Operasional

Hasil *scanning* panjang gelombang parasetamol memperoleh nilai absorbansi maksimal pada 254 nm yang berbeda dengan panjang gelombang maksimal pada FI Ed. V (2014) yaitu 243 nm. Perbedaan ini wajar karena adanya pengaruh perbedaan pelarut, kemurnian sampel, dan konsentrasinya meskipun analisis dilakukan pada suhu dan pH yang sama (Maghfiroh et al., 2022). Sedangkan panjang gelombang maksimal guaifenesin yang diperoleh adalah 274 nm yang sama dengan panjang gelombang yang tercantum pada FI Ed. V yaitu rentang 274-276 nm dan hampir sama dengan perolehan Budiarti & Afifah (2017) yaitu pada 273,30 nm. Panjang gelombang maksimum klorfeniramin maleat yang diperoleh adalah 265 nm yang sama persis dengan panjang gelombang maksimal yang tercantum pada FI Ed. V yaitu 265 nm dan hampir sama dengan perolehan Chengalva & Kuchana (2019) yaitu 262 nm.

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat ditentukan berdasarkan titik isobastik atau titik potong ketiga spektra hasil *scanning* ketiga senyawa tersebut. Titik isobastik dipilih karena pada titik ini terjadi kesetimbangan respon oleh masing-masing zat (Budiarti et al., 2025). Dengan teknik *overlay* terhadap ketiga spektra maka diperoleh titik isobastik pada panjang gelombang 265 nm yang tampak pada Gambar 1.



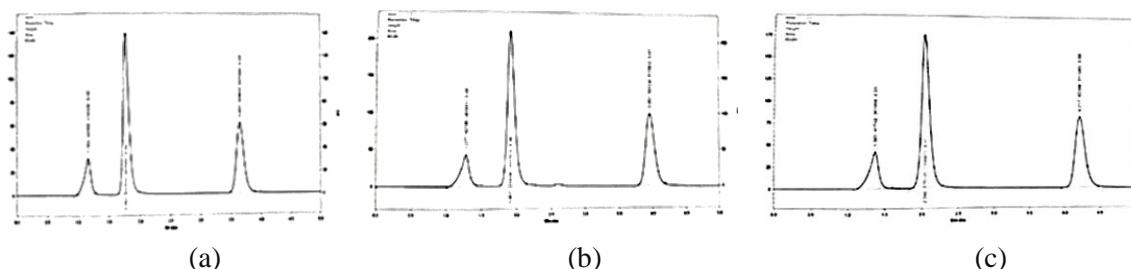
Gambar 1. Hasil *scanning* panjang gelombang parasetamol (a), guaifenesin (b), dan klorfeniramin maleat (c)

### Optimasi Fase Gerak

Fase gerak pada penelitian ini yang digunakan adalah metanol, air, dan asetonitril yang ditentukan berdasarkan hasil optimasi Chengalva & Kuchana (2019), Budiarti & Afifah (2017) dan Ardiyanti et al. (2014). Sedangkan komposisi fase gerak yang dioptimasi mengacu pada hasil

optimasi Budiarti & Afifah (2017) yaitu metanol: air: asetonitril (75:15:10, v/v/v). Optimasi ini dilakukan untuk menghasilkan fase gerak dengan nilai polaritas gabungan yang secara bersama-sama mampu memisahkan ketiga komponen dengan resolusi baik dan luas area kromatogram terbesar (Wulandari et al., 2025).

Optimasi fase gerak dilakukan pada panjang gelombang operasional hasil optimasi yaitu 265 nm dengan kecepatan aliran 1 mL/menit. Hasil optimasi fase gerak dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 1.



**Gambar 2. Optimasi fase gerak dengan perbandingan komposisi (metanol: air: asetonitril, v/v/v) (a) 75:20:5, (b) 75:15:10, (c) 75:10:15.**

Pada Gambar 2, ketiga kromatogram yang dihasilkan oleh fase gerak dengan komposisi metanol: air: asetonitril (75:20:5), (75:15:10) dan (75:10:15) menunjukkan pemisahan yang baik, tidak ada satupun kromatogram puncak yang melebar, waktu retensi cepat, dan bentuk puncak yang simetris. Oleh karena itu, pemilihan fase gerak operasional perlu didukung dengan penghitungan nilai resolusi dan luas kromatogram yang dijelaskan pada Tabel 1.

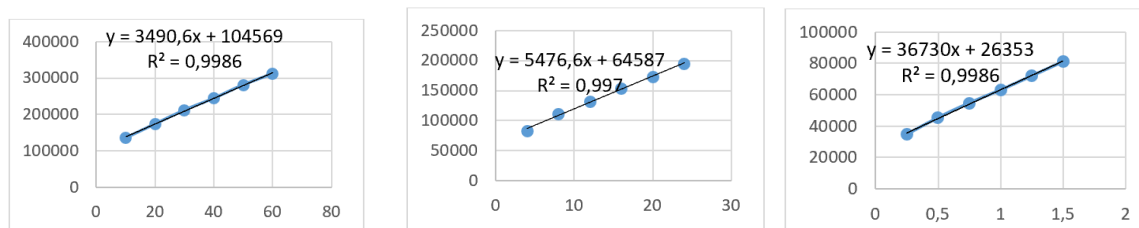
**Tabel 1. Optimasi komposisi fase gerak**

Fase Gerak (metanol: air: asetonitril)	Waktu Retensi (menit)			Luas Kromatogram (unit)			Nilai Resolusi		Ket.
	Klorfe- niramin	Paraset amol	Guaife- nesin	Klorfe- niramin	Parasetam ol	Guaife- nesin	Klor- Para	Para- Guai	
75: 20: 5	1,163	1,767	3,647	218339	881666	531565	2,63	4,04	
75: 15: 10	1,277	1,907	3,957	361011	1527513	917823	2,30	4,26	Optimum
75: 10: 15	1,363	2,040	4,217	361998	1338874	811063	2,40	4,08	

Tabel 1 menunjukkan waktu retensi untuk semua senyawa pada ketiga kromatogram termasuk dalam kategori cepat yaitu 1,163 karena tidak melebihi waktu analisis 5 menit. Begitupula nilai resolusi untuk semua senyawa pada ketiga kromatogram melebihi 1,5 sehingga pemisahan oleh ketiga komposisi fase gerak semua hasilnya baik atau selektif. Selain itu, fase gerak dengan komposisi metanol: air: asetonitril (75:15:10) menghasilkan kromatogram ketiga senyawa paling luas sehingga ditetapkan sebagai komposisi paling optimum dan dipilih sebagai fase gerak operasional. Komposisi ini sama dengan komposisi fase gerak hasil optimasi Budiarti & Afifah (2017) yang digunakan untuk menganalisis guaifenesin dan klorfeniramin.

### Pembuatan Kurva Baku

Kurva baku parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat dibuat pada seri konsentrasi larutan baku parasetamol pada 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 µg/mL; seri konsentrasi larutan baku guaifenesin pada 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,25; dan 1,5 µg/mL dan seri konsentrasi larutan klorfeniramin maleat pada 4, 8, 12, 16, 20, dan 24 µg/mL. Hasil pembuatan kurva baku tampak pada Gambar 3.



(a) (b) (c)  
**Gambar 3. Kurva baku (a) parasetamol, (b) guaifenesin, (c) klorfeniramin maleat**

Ketiga persamaan kurva baku pada Gambar 3 memiliki nilai koefisien korelasi ( $r \geq 0,999$ ) sehingga bersifat linier. Linieritas ini ditentukan berdasarkan besarnya nilai  $r$  yang memenuhi persyaratan linier yaitu  $r \geq 0,995$  (ICH, 2005). Hasil ini menunjukkan bahwa metode analisis yang dikembangkan memiliki hubungan linier yang kuat antara perubahan konsentrasi ketiga senyawa dengan respon detektor UV yang digunakan. Persamaan kurva baku untuk ketiga senyawa aktif adalah  $y = 3490,6x + 104569$  untuk analisis parasetamol;  $y = 5476,6x + 64587$  untuk analisis guaifenesin; dan  $y = 36730x + 26353$  untuk analisis klorfeniramin maleat.

### Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis yang diterapkan pada penelitian ini adalah validasi kategori 1, yaitu validasi untuk metode penetapan kadar komponen utama dalam suatu sediaan jadi. Oleh karena itu, parameter yang diuji meliputi linieritas, akurasi, presisi, selektivitas, dan sensitivitas (Lister 2005). Pada penelitian ini tidak dilakukan uji validasi ketangguhan/ *robustness* karena ketiga senyawa tidak mudah terionisasi sehingga fase gerak tidak memerlukan dapar. Jika fase gerak hanya berupa campuran pelarut organik dan air tanpa komponen dapar, maka variasi pH terkontrol sebagai faktor kritis menjadi minimal sehingga uji *robustness* tidak harus dilakukan (Dong et al., 2021).

### Linieritas

Uji linieritas dilakukan terhadap persamaan regresi kurva baku yang telah dipilih. Evaluasi didasarkan pada hubungan proporsional antara konsentrasi dan luas puncak kromatogram, yang diukur melalui nilai koefisien korelasi ( $r$ ). Pada penelitian ini, nilai koefisien korelasi untuk parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat berturut-turut adalah 0,999, 0,998, dan 0,999. Ketiga nilai  $r$  memenuhi standar koefisien korelasi untuk lima titik data, yaitu lebih dari 0,995 (ICH, 2005) yang menandakan bahwa metode tersebut mampu menunjukkan respons yang sebanding secara linier terhadap variasi konsentrasi zat yang diuji (Harmita 2004). Hasil ini menunjukkan bahwa metode analisis yang dikembangkan memiliki hubungan linier yang kuat antara perubahan konsentrasi ketiga senyawa dengan respon detektor UV yang digunakan.

### Akurasi

Ketepatan metode analisis menggambarkan seberapa dekat hasil pengukuran kadar dengan nilai sebenarnya. Uji ketepatan pada penelitian ini dilakukan dengan metode penambahan standar kemudian dihitung persentase perolehan kembalinya. Detail hasil uji akurasi untuk parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat dijelaskan pada Tabel 2.

**Tabel 2. Akurasi metode analisis**

Penambahan Baku (%)	Perolehan Kembali (%)		
	Parasetamol	Guaifenesin	Klorfeniramin maleat
80	100,15-100,96	99,69-100,35	99,77-101,98
100	100,39-100,62	99,94-101,12	99,69-100,39
120	100,35-100,95	100,30-101,20	100,23-100,42

Seluruh nilai perolehan kembali yang diperoleh sesuai dengan standar yang diterima, yakni berada dalam rentang 98-102%. Hasil uji akurasi ini membuktikan bahwa metode analisis mampu menghasilkan pengukuran kadar parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat yang sama atau mendekati nilai sebenarnya (Lister, 2005).

### Presisi

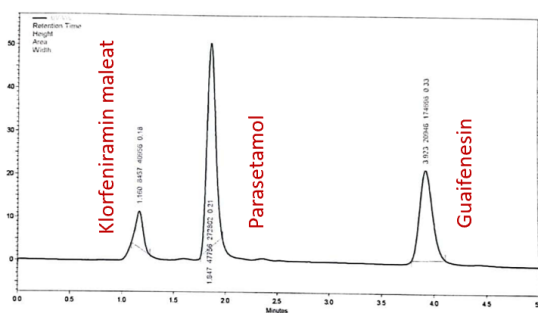
Hasil uji presisi memperoleh nilai %RSD untuk analisis parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat semua kurang dari 2% sehingga memenuhi persyaratan yaitu nilai  $RSD \leq 2$ . Hasil ini menunjukkan bahwa metode yang dikembangkan mampu menghasilkan data analisis yang sama atau hampir sama antar data (Gonzales et al., 2010). Hasil uji presisi disajikan pada Tabel 3.

**Tabel 3. Presisi metode analisis**

Parasetamol		Guaifenesin		Klorfeniramin maleat	
Kadar ( $\mu\text{g/mL}$ )	%RSD	Kadar ( $\mu\text{g/mL}$ )	%RSD	Kadar ( $\mu\text{g/mL}$ )	%RSD
20	0,710	0,5	0,666	8	0,642
30	0,742	0,75	0,417	12	0,638
40	0,519	1	1,114	16	0,568

### Selektivitas

Selektivitas mengacu pada kemampuan suatu metode untuk secara tepat dan teliti mengukur senyawa target meskipun terdapat komponen lain dalam sampel. Tingkat selektivitas ini diukur melalui nilai resolusi ( $R$ ) antara puncak senyawa target dengan puncak zat lain yang terdapat dalam sirup obat batuk. Nilai resolusi yang dianggap memenuhi standar adalah  $R \geq 1,5$ , yang menunjukkan pemisahan yang baik (Harmita, 2004). Kromatogram untuk parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat disajikan pada Gambar 4.



**Gambar 4. Kromatogram parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat**

Nilai resolusi ( $R$ ) yang terukur antara klorfeniramin maleat dan parasetamol adalah 2,30, sedangkan antara nilai  $R$  antara puncak parasetamol dan guaifenesin adalah 4,26. Kedua nilai ini lebih besar dari nilai yang dipersyaratkan yaitu  $R \geq 1,5$ . Hasil ini menunjukkan bahwa metode KCKT yang dikembangkan memiliki tingkat selektivitas yang baik sehingga dapat memisahkan dan mengidentifikasi parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat yang terkandung dalam campuran.

### Sensitivitas

Sensitivitas metode ditentukan berdasarkan batas konsentrasi terkecil analit yang dapat dideteksi oleh metode analisis atau disebut Limit of Detection (LOD) dan batas konsentrasi terkecil analit yang dapat diukur secara teliti dan tepat atau disebut Limit of Quantification (LOQ). Nilai LOD dan LOQ untuk analisis parasetamol adalah 2,20  $\mu\text{g/mL}$  dan 7,33  $\mu\text{g/mL}$ . Nilai LOD dan LOQ untuk analisis guaifenesin adalah 1,27  $\mu\text{g/mL}$  dan 4,24  $\mu\text{g/mL}$ . Nilai LOD dan LOQ untuk analisis klorfeniramin maleat adalah 0,05  $\mu\text{g/mL}$  dan 0,18  $\mu\text{g/mL}$ . Perlu diketahui bahwa metode analisis dikatakan semakin sensitif apabila nilai LOD dan LOQ-nya semakin kecil (Gandjar dan Rohman, 2015). Tingkat sensitivitas untuk analisis parasetamol ini lebih rendah dibandingkan pengembangan metode oleh Chengalva & Kuchana (2019) yang memperoleh nilai LOD sebesar 1,06  $\mu\text{g/mL}$  dan LOQ sebesar 3,02  $\mu\text{g/mL}$  pada deteksi 220 nm. Hal ini dapat disebabkan karena panjang gelombang operasional kurang optimum untuk parasetamol (Rao, 2018). Panjang gelombang untuk deteksi ketiga senyawa pada metode ini adalah 265 nm, sedangkan panjang gelombang maksimal parasetamol dalam pelarut organik adalah 243-245 nm.

### Penetapan Kadar

Kadar parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat ditetapkan dengan cara mengekstrapolasikan luas area kromatogram pada persamaan kurva baku ketiga senyawa masing-masing. Kadar yang diperoleh selanjutnya dikonversi sebagai kandungan dengan cara kadar yang diperoleh dibagi dengan kadar yang seharusnya terkandung yaitu tiap 5 mL mengandung parasetamol 120 mg, guaifenesin 50 mg, dan klorfeniramin maleat 1 mg. Hasil penetapan kadar tersebut disajikan pada Tabel 4.

**Tabel 4. Hasil Penetapan Kadar Parasetamol, Guaifenesin, dan Klorfeniramin dalam Sirup**

Sam- pel	Luas Puncak (Unit)			Kandungan (%)			Rata-rata Kandungan (%)		
	Parase tamol	Guai fenesin	Klorfe niramin	Parase tamol	Guai fenesin	Klorfenira min	Parase tamol	Guai fenesin	Klorfeni ramin
A	272482	174254	40907	100,22	100,04	99,06	100,34	100,27	99,99
	272672	174586	41013	100,33	100,12	99,78			
	272629	174397	41131	100,30	100,43	100,58			
	272564	174345	41047	100,27	100,25	100,01			
	273427	174392	41075	100,78	100,21	100,27			
	272387	174513	41085	100,16	100,25	100,27			
B	272801	174696	40956	100,41	100,36	99,39	100,37	100,18	100,03
	272481	174998	41056	100,22	100,53	100,07			
	272668	174738	41086	100,33	100,80	100,28			
	272431	174539	41131	100,19	100,56	100,58			
	273780	174628	41087	100,99	100,38	100,29			
	272301	174260	40979	100,11	100,46	99,55			
C	272672	174411	41013	100,33	100,13	99,78	100,37	100,29	100,09
	272312	174254	41120	100,12	100,27	100,51			
	273507	174539	41131	100,83	100,28	100,59			
	272691	174317	40940	100,34	100,18	99,28			
	272802	174738	41086	100,42	100,56	100,28			
	272481	174389	41056	100,22	100,25	100,07			

Penelitian memperoleh kandungan rata-rata parasetamol dalam sampel A adalah 100,34%, sampel B 100,37%, dan sampel C 100,37%. Kadar rata-rata guaifenesin pada sampel A adalah 100,27%, sampel B 100,18%, dan sampel C 100,29%. Sedangkan kadar rata-rata klorfeniramin maleat dalam sampel A mengandung 99,99%, sampel B 100,03%, dan sampel C 100,09%. Kandungan inilah yang dibandingkan dengan persyaratan kandungan zat aktif dalam sirup sesuai Farmakope Indonesia yaitu pada rentang 90-110% (Depkes RI, 2014). Kadar ketiga senyawa tersebut sesuai dengan standar yang tercantum dalam Farmakope Indonesia (Depkes RI, 2020).

## KESIMPULAN

Metode analisis yang dikembangkan telah berhasil divalidasi dan dapat digunakan untuk mengukur kandungan parasetamol, guaifenesin, dan klorfeniramin maleat pada tiga sirup obat batuk dan flu anak. Metode ini menunjukkan karakteristik linieritas, akurasi, presisi, dan selektivitas yang baik. Namun, metode yang dikembangkan ini masih memiliki tingkat sensitivitas yang rendah sehingga perlu dilakukan optimasi ulang pada panjang gelombang, komposisi fase gerak, ataupun uji validasi pada parameter *robustness*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ardiyanti, Y., Riyanto, S., & Rohman, A., (2014), Determination Of Paracetamol, Guaiphenesin, Chlorpheniramine Maleate and Phenylpropanolamine Hydrochloride In Cough and Cold Tablet Using High Performance Liquid Chromatography. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, 2, 83-92.
- Boltia, S.A., Soudi, A.T., Elzanfaly, E.S., & Zaazaa, H.E., (2019), Simultaneous Quantification of Chlorpheniramine, Phenylephrine, Guaifenesin in Presence of Preservatives with Detection of Related Substance Guaiacol in their Cough Syrup by RP-HPLC and TLC-Densitometric Methods, *Journal of Chromatographic Science*, 57(6), 552–559, <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmz027>
- Budiarti, A., & Afifah, I., (2017), Validasi metode analisis klorfeniramin maleat dan guaifenesin menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi serta aplikasinya dalam sediaan sirup, *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 14(1), 41-47.
- Chengalva, P. & Kuchana, M. (2019), Stability Indicating Ultra Performance Liquid Chromatographic Method for Simultaneous Determination of Phenylephrine Hydrochloride, Chlorpheniramine Maleate, Paracetamol, Guaiphenesin and Bromhexine Hydrochloride in Bulk and Pharmaceutical Formulation, *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 11(5), 284-292.
- Depkes RI, (2014), *Farmakope Indonesia Edisi V*, Jakarta

- 
- Depkes RI, (2020), *Farmakope Indonesia Edisi VI*, Jakarta.
- Dong, Y., Liu, Z., Li, C., Pinter, E., Potts, A., Tadey, T. & Weiser, W. (2021). Perspectives in Modeling and Model Validation During Analytical Quality by Design Chromatographic Method Evaluation: A Case Study. *AAPS Open*, 1-14. <https://doi.org/10.1186/s41120-021-00037-y>.
- Gandjar, I.G. & Rohman, A., (2010), *Kimia Farmasi Analisis*, Yogyakarta: Pustaka Pelajar, pp. 378-380.
- Gonzales, A.G., Herrador, M.A., & Asuero, A.G., (2010), Intra-laboratory assessment of method accuracy (trueness and precision) by using validation standards, *Talanta*, 82, 1995-1998.
- Harmita, (2004), Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya, *Majalah Ilmu Farmasi*, 1, 117-135.
- International Council for Harmonisation. (2005). *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)*. Geneva, Switzerland: ICH.
- Lister, A.S., (2005), Validation of HPLC Methods in Pharmaceutical Analysis, in S. Ahuja & M.W. Dong, *Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC*, pp. 191–217, Worldwide Research & Development, Purdue Pharma, New York.
- Rao, T.N. (2018). *Validation of Analytical Methods*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.72087>.
- Snyder, R.L., Kirkland, J.J., & Glajch, J.L., 1997, *Practical HPLC Method Development*, 2nd Edition, John Wiley & Son, Inc., New York, 686 697.
- Tjay, T.H. & Rahardja, K., (2007), *Obat-Obat Penting: Kasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*, 6th ed., PT. Elex Media Komputindo, Jakarta.
- Utomo, M.T., Budiarti, A., & Anwar, K., (2024), Analisis Kadar Difenhidramin, Dekstrometorfan Dan Fenilefrin Dalam Sirup Obat Batuk Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, (Suppl. 2)1, 42-49.
- Wulandari, R.K., Budiarti, A., & Yumni, G.G., (2025), Validasi Metode Analisis Nikotinamida, Vitamin B6, dan Vitamin C Menggunakan KCKT dan Aplikasinya pada Sediaan Suplemen Kesehatan, *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 10(2), 55-61.