

PENETAPAN KADAR DEKSAMETASON DAN DEKSKLORFENIRAMIN MALEAT SECARA SIMULTAN PADA SEDIAAN SIRUP MENGGUNAKAN METODE KCKT

AnneYuliantini, Rika Rendrika, Endhayanti Oktovia Hermanto
Sekolah Tinggi Farmasi Bandung, Jl. Soekarno Hatta No. 754, Bandung
*Alamat Korespondensi: anne.yuliantini@stfb.ac.id

ABSTRAK

Salah satu sirup yang mengandung lebih dari satu macam zat aktif adalah sirup campuran deksametason dan deksklorfeniramin maleat. Untuk menjamin kualitas sediaan obat, dilakukan pemeriksaan kadar zat aktif dalam sirup campuran deksametason dan deksklorfeniramin maleat. Tujuan penelitian ini adalahh mendapatkan metode alternatif dalam menentukan kadar deksametason dan deksklorfeniramin maleat secara simultan pada sediaan sirup yang beredar dipasaran dengan metode KCKT yang telah dikembangkan. Analisis dilakukan dengan metode KCKT fase balik dengan kolom C18, fase gerak air-asetonitril (65:35, V/V), laju alir 1,0 mL/menit dan panjang gelombang pengamatan adalah 241 nm. Hasil validasi metode diperoleh nilai batas deteksi, batas kuantisasi, koefisien korelasi, persen perolehan kembali dan nilai RSD yang baik. Dari hasil pengukuran sampel, didapatkan bahwa sampel 1 dan 2 mengandung sebesar 103,383% dan 102,626% (deksametason) dan 102,454% dan 99,349% (deksklorfeniramin maleat) sesuai dengan persyaratan kadar yang terdapat dalam FI V (90,0%-110,0%). Metode KCKT dapat digunakan untuk menentukan kadar dalam sediaan sirup deksametason dan deksklorfeniramin maleat secara simultan.

Kata kunci : deksametason, deksklorfeniramin maleat, KCKT, sirup

ABSTRACT

One of syrup that containing more than one active ingredient is syrup a mixture of dexamethasone and dexchlorpheniramine maleate. To ensure the quality of the drug preparation, checked the levels active in syrup mixture of dexamethasone and dexchlorpheniramine maleate. The Purpose is get an alternative method of determine levels dexamethasone and dexchlorpheniramine maleate syrup simultaneously in the market with HPLC method has been developed. Analysis has done by utilizing HPLC, reverse phase with column C18, mobile phase water-acetonitrile (65:35, V/V), flow rate 1.0 mL/minute and wavelength observation is 241 nm. The result of validation method have good values for limits of detection, limit of quantitation, coefficient correlation, percent recovery and RSD values. From the measurement results of samples, that the samples 1 and 2 containing 103.383% and 102.626% (dexamethasone) and 99.349% and 102.454% (dexchlorpheniramine maleate) accordance with the requirements contained in the FI level V (90,0%-110,0%). The HPLC method can be used to determine the levels of dexamethasone and dexchlorpheniramine maleate syrups simultaneously.

Keywords: dexamethasone, dexchlorpheniramine maleate, HPLC, syrup

A. Pendahuluan

Pada saat sekarang ini banyak tersedia sediaan sirup yang mengandung lebih dari satu macam zat aktif. Salah satu sediaan sirup yang mengandung lebih dari satu macam zat aktif adalah sirup yang mengandung campuran deksametason dan deksklorfeniramin maleat.

Deksametason merupakan salah satu senyawa glukokortikoid. Sedangkan deksklorfeniramin maleat merupakan

suatu antihistamin yang dapat mencegah gejala-gejala alergi, yang disebabkan sebagian besar oleh histamin H1.

Pemeriksaan kadar zat aktif merupakan persyaratan yang harus dipenuhi untuk menjamin kualitas sediaan obat. Sediaan obat yang berkualitas baik akan menunjang tercapainya efek terapeutik yang diharapkan. Salah satu persyaratan mutu adalah kadar yang dikandung harus memenuhi persyaratan kadar seperti yang

tercantum dalam Farmakope Indonesia atau buku standar lainnya. Persyaratan sediaan tunggal untuk deksametason dan deksklorfeniramin maleat dalam Farmakope Indonesia edisi V (2014) adalah mengandung tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110% dari jumlah yang tertera pada etiket. Selama ini juga belum ada penelitian mengenai penetapan kadar pada sirup kombinasi tersebut menggunakan metode KCKT secara simultan atau secara bersama-sama antara dua zat aktif tersebut.

B. Metodologi Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental laboratorium. Populasinya adalah sirup kombinasi yang mengandung deksametason 0,5 mg dan deksklorfeniramin maleat 2 mg dengan berbagai konsentrasi. Sampel penelitiannya berupa sirup kombinasi yang beredar dipasaran mengandung deksametason 0,5 mg dan deksklorfeniramin maleat 2 mg. Data diperoleh dari hasil analisis laboratorium menggunakan KCKT terhadap parameter validasi yang meliputi parameter linearitas, batas deteksi, batas kuantisasi, akurasi, dan presisi.

C. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu unit alat KCKT yang terdiri dari pompa, UV/Vis detektor, kolom C18, penyuntik mikroliter (100 μ l) dan wadah fase gerak. Membran filter, spektrofotometer ultraviolet, *ultrasonic cleaner*, neraca analitik, kuvet, mortir dan

stamper, gelas beker, gelas ukur, pipet ukur, pipet volume, pipet tetes dan alat-alat lainnya yang diperlukan dalam penyiapan sampel dan larutan.

Bahan-bahan yang digunakan adalah kualitas dengan *grade* HPLC yaitu asetone nitril, metanol, *aquabidestilata*, asam asetat glasial, deksametason, deksklorfeniramin maleat, Sirup Dextaco (PT. Berlico), Sirup Dextamine (PT. Phapros), sirupus simplex, propilenglikol, nipagin dan pewarna.

D. Prosedur Kerja

Pembuatan Larutan Induk

1. Pembuatan Stok Larutan Baku Deksametason 500 bpj.

Kedalam labu ukur 50 mL dimasukkan 25 mg deksametason dan dilarutkan dengan 10,0 mL campuran pelarut, disonifikasi selama 10 menit kemudian diencerkan dengan pelarut hingga batas tanda. sehingga diperoleh larutan baku deksametason dengan konsentrasi 500 bpj.

2. Pembuatan Larutan Baku Tunggal Deksametason.

Larutan baku deksametason 500 bpj dipipet 1,0 mL kemudian masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan pelarut sampai tanda batas, sehingga diperoleh seri larutan baku deksametason dengan konsentrasi 5 bpj.

3. Pembuatan Stok Larutan Baku Deksklorfeniramin Maleat 1000 bpj.

Kedalam labu ukur 25 mL dimasukkan 25 mg deksklorfeniramin maleat dan dilarutkan dengan 10,0 mL pelarut, disonifikasi selama 10 menit kemudian

diencerkan dengan pelaruthingga batas tanda sehingga diperoleh larutan baku deksklorfeniramin maleat dengan konsentrasi 1000 bpj.

4. Pembuatan Larutan Baku Tunggal Deksklorfeniramin Maleat.

Larutan baku deksklorfeniramin maleat 1000 bpj dipipet 2,0 mL kemudian masing-masing dimasukan ke dalam labu ukur 100mL dan diencerkan dengan pelarutsampai tandabatas, sehingga diperoleh seri larutan baku deksklorfeniramin maleat dengan konsentrasi 20 bpj.

5. Pembuatan Seri Larutan Baku Campuran Deksametason dan Deksklorfeniramin Maleat.

Larutan induk deksametason 500 bpj dan larutan induk deksklorfeniramin maleat 1000 bpj masing-masing dipipet 0,25:0,5 mL, 0,5:1,0 mL, 0,75:1,5 mL, 1,0:2,0 mL, 1,25:2,5 mL, 1,5:3,0 mL, 1,75:3,5 mL dan masing-masing dimasukan ke dalam labu ukur 100mL kemudian diencerkan dengan pelarut sampai tanda batas, sehingga diperoleh seri konsentrasi campuran deksametason : deksklorfeniramin maleat 1,25:5 bpj, 2,5:10 bpj, 3,75:15 bpj, 5:20 bpj, 6,25:25 bpj, 7,5:30 bpj dan 8,75:35 bpj.

Penentuan Panjang Gelombang Pengamatan

Panjang gelombang ditentukan dari larutan baku tunggal deksametason dengan konsentrasi 5 bpj, larutan baku tunggal deksklorfeniramin maleat dengan konsentrasi 20 bpj, dan larutan baku campuran deksametason dan

deksklorfeniramin maleat 5:20 bpj masing-masing diukur dengan spektrofotometer UV-Vis, kemudian dilihat kurva serapannya pada panjang gelombang 200 – 400 nm. Nilai panjang gelombang maksimum dipilih untuk analisis.

Uji Kesesuaian Sistem (UKS)

Larutan baku campuran deksametason dan deksklorfeniramin maleat 5:20 bpj disaring dengan membran filter 0,2 μm , kemudian filtratnya diinjeksikan ke sistem KCKT model Shimadzu, dengan kolom 18 (3,9 mm x 150 mm) ukuran partikel 5 μm , volume penyuntikan 20 μL , teknik elusi gradient, panjang gelombang 254 nm, pelarut asam asetat glasial 1%-asetonitril (65:35) dan fase gerak air-asetonitril (70:30), laju alir 1,0 mL/menit. Pada uji kesesuaian sistem terdapat parameter-parameter yang harus dipenuhi meliputi $N \geq 2000$, *tailing factor* ≤ 2 , $k' \geq 2$, resolusi $\geq 1,5$, dan %RSD (*Relative Standard Deviation*) dari 6 kali penginjekan $\leq 2\%$.

Validasi Metode Analisis

1. Pembuatan Kurva Kalibrasi dan Uji Linearitas

Disaring seri larutan baku campuran deksametason : deksklorfeniramin maleat 1,25:5 bpj, 2,5:10 bpj, 3,75:15 bpj, 5:20 bpj, 6,25:25 bpj, 7,5:30 bpj dan 8,75:35 bpj dengan membran filter 0,2 μm , kemudian filtratnya masing-masing diinjeksikan ke sistem KCKT dengan volume penyuntikan 20 μL , deteksi dilakukan pada panjang gelombang 254 nm. Selanjutnya diplotkan antara konsentrasi larutan dengan luas *Area*

Under Curve (AUC), sehingga didapat kurva larutan induk deksametason dan deksklorfeniramin maleat. Kemudian dihitung koefisien korelasi dari persamaan garis regresi tersebut.

2. Uji Batas Deteksi dan Batas Kuantisasi

Larutan baku campuran yang mengandung deksametason 5 bpj dan deksklorfeniramin maleat 20 bpj disuntikkan 20 µL sebanyak enam kali, kemudian dihitung batas deteksi (BD) dan batas kuantisasi (BK) masing-masing dengan rumus sebagai berikut:

$$BD = \frac{3 \times SB}{Kemiringan}$$
$$BK = \frac{10 \times SB}{Kemiringan}$$

Keterangan: SB = Simpangan baku
Untuk menghitung Standar Deviasi (SD) dengan rumus:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

Keterangan: SD = Standar Deviasi

X = Kadar sampel

\bar{X} = Kadar rata-rata sampel

n = Jumlah perlakuan

3. Penetapan Kadar Sampel

Sampel diambil sebanyak 5mL(deksametason 0,5 mg dan deksklorfeniramin maleat 2 mg)kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL, dilarutkan dengan pelarut yang digunakan dan diaduk hingga homogen. Larutan sampel disaring dengan membran filter0,2 µm, kemudian filtratnya masing-masing diinjeksikan ke sistem KCKT dengan volume penyuntikan 20 µL, deteksi dilakukan pada panjang gelombang 254 nm dan dihitung kadar sampelnya.

4. Uji Akurasi

Akurasi (kecermatan) dilakukan dengan metode simulasi atau *spiked placebo recovery* dengan cara menambahkan sejumlah tertentu zat aktif ke dalam formulasi plasebo. Sirup simulasi yang terdiri dari plasebo, baku deksametason dan baku deksklorfeniramin maleat pada konsentrasi 80%, 100%, dan 120% dari kadar yang tertera pada label. Kadar yang tertera pada label yaitu0,5 mg deksametason dan 2 mg deksklorfeniramin maleat. Persen perolehan kembali (% *recovery*), dapat ditentukan dengan rumus

:

$$\% \text{ Perolehan kembali} = \frac{\text{Kadar terukur}}{\text{Berat zat aktif}} \times 100\%$$

Tabel 1: Komposisi Sirup Simulasi dengan konsentrasi 80%, 100% dan 120%

Komponen yang ditimbang (mg)	80%	100%	120%
Deksametason	0,4	0,5	0,6
Deksklorfeniramin Maleat	1,6	2,0	2,4
Sirupus Simplex	25%	25%	25%
Propilenglikol	10%	10%	10%
Nipagin	0,02	0,02	0,02
Pewarna	qs	Qs	qs
Pelarut	ad 60 mL	ad 60 mL	ad 60 mL

5. Uji Presisi

Uji presisi (keeksamaan) ditentukan dengan parameter RSD (Relatif Standar Deviasi)dengan rumus:

$$\% \text{ RSD} = \frac{\text{SD}}{\bar{X}} \times 100\%$$

Keterangan: RSD = Relatif Standar Deviasi

SD = Standar Deviasi

\bar{X} = Kadar rata-rata sampel

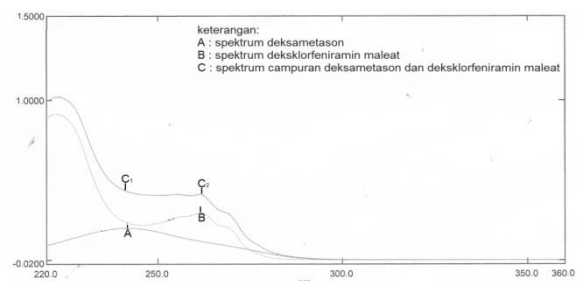
E. Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian penetapan kadar zat aktif obat, sampel yang dipilih merupakan sediaan sirup yang mengandung campuran deksametason 0,5 mg dan deksklorfeniramin maleat 2 mg. Penetapan kadar zat aktif merupakan persyaratan yang harus dipenuhi untuk menjamin kualitas sediaan obat. Kadar zat aktif obat ditentukan dengan metode KCKT menggunakan kolom C18, fase gerak yang digunakan campuran air dan asetonitril serta pelarut yang digunakan campuran metanol dan air. Metode analisis menggunakan alat KCKT ini dipilih karena memiliki banyak kelebihan yaitu waktu analisis yang cepat dan juga sensitif. Untuk membuktikan bahwa metode analisis dapat memberikan data

yang valid, maka dilakukan validasi metode analisis.

1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Untuk memperoleh pengukuran yang optimum maka komponen zat aktif deksametason dan deksklorfeniramin maleat dideteksi pada panjang gelombang yang memberikan serapan optimum bagi masing-masing komponen. Penentuan panjang gelombang dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer ultraviolet-visibel. Panjang gelombang ditentukan dari larutan baku tunggal deksametason dengan konsentrasi 5 bjj, larutan baku tunggal deksklorfeniramin maleat 20 bjj, dan larutan baku campuran deksametason-deksklorfeniramin maleat 5 bjj : 20 bjj dalam pelarut metanol:air (1:1).



Gambar 1: Spektrum Serapan Deksametason (A), Deksklorfeniramin Maleat (B), Campuran Deksametason-Deksklorfeniramin Maleat (C)

Tabel 2: Panjang Gelombang Maksimum dari Spektrum Serapan A, B, dan C

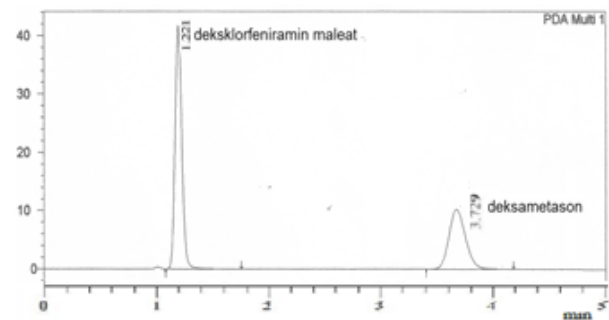
Spektrum	Panjang gelombang maks (nm)
A	241,8
B	241,6
C ₁	241,6
C ₂	261,7

Dilihat dari Tabel VI.1 dapat diketahui bahwa panjang gelombang deksametason pada 241 nm dan deksklorfeniramin maleat pada 262 nm. Panjang gelombang yang digunakan untuk pengukuran campuran larutan deksametason dan deksklorfeniramin maleat yaitu 242 nm. Digunakan panjang gelombang deksametason karena deksametason sendiri memberikan serapan yang relatif besar dari pada deksklorfeniramin maleat. Serapan deksametason lebih besar karena konsentrasi deksametason saat analisis lebih kecil daripada deksklorfeniramin maleat yaitu 1:4.

Setelah penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan optimasi untuk mengetahui komposisi fase gerak yang akan digunakan dalam proses validasi. Hasil dari optimasi komposisi fase gerak untuk analisis baku campuran deksametason dan deksklorfeniramin maleat yang diinjeksikan pada sistem KCKT diperoleh komposisi fase gerak asetonitril air (35:65) dengan laju alir 1 mL/menit.

Mekanisme pemisahan deksametason dan deksklorfeniramin maleat ini menggunakan fase balik (C18) karena kedua komponen ini berbeda sifat

kepolarannya. Dimana deksklorfeniramin maleat lebih polar daripada deksametason, sehingga deksklorfeniramin maleat akan terelusi lebih dahulu dibandingkan deksametason. Hasil identifikasi deksametason BPFI diperoleh kromatogram dengan waktu retensi pada menit ke-3,7 dan untuk deksklorfeniramin maleat BPFI diperoleh dengan waktu retensi pada menit ke-1,2.



Gambar2: Kromatogram baku campuran deksametason dan deksklorfeniramin maleat 5:20 bpj.

2. Uji Kesesuaian Sistem (UKS)

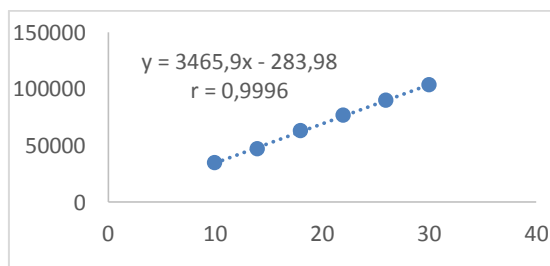
Uji kesesuaian sistem dilakukan untuk memastikan kesesuaian dan keefektifan sistem yang digunakan agar diperoleh kondisi operasional dan kromatogram yang baik. Dimana USP merekomendasikan untuk melakukan UKS sebanyak enam kali dengan syarat kelulusan RSD dari luas area seluruh hasil pengujian tidak lebih dari 2% dengan nilai N, resolusi, Tf, dan k' memenuhi syarat. Senyawa yang disuntikkan ke dalam KCKT adalah larutan baku campuran yang mengandung deksametason dan deksklorfeniramin maleat 5:20 bpj.

3. Validasi Metode Analisis

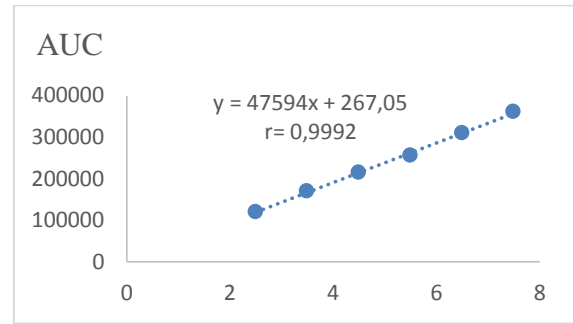
a. Pembuatan Kurva Kalibrasi dan Uji

Linearitas

Linieritas diperoleh dengan cara membuat kurva kalibrasi. Linearitas merupakan kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. USP merekomendasikan uji linieritas dengan jumlah sampel minimal 5 konsentrasi. Pada penelitian ini digunakan 6 konsentrasi deksametason dan deksklorfeniramin maleat. Dari percobaan dibuat larutan baku dalam bpj dengan perbandingan deksametason dan deksklorfeniramin maleat berturut-turut (2,5:10), (3,5:14), (4,5:18), (5,5:22), (6,5:26), (7,5:30). Untuk deksametason diperoleh persamaan $y=47594x+267,05$ dengan $r = 0,9992$ sedangkan deksklorfeniramin maleat didapatkan persamaan $y = 3465,9x - 23,9$ dengan $r = 0,9996$. Syarat suatu metode dikatakan baik apabila koefisien korelasinya (r) lebih dari 0,995. Berdasarkan syarat tersebut maka hasil uji linearitas deksametason dan deksklorfeniramin maleat memenuhi parameter uji linearitas.



Gambar 3: Kurva Kalibrasi baku deksklorfeniramin maleat dalam larutan campuran.



Gambar 4: Kurva Kalibrasi baku deksametason dalam larutan campuran.

b. Uji batas deteksi dan batas kuantitasi

Batas deteksi merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibanding dengan blanko. Sedangkan batas kuantitasi merupakan kuantitasi terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria akurat dan seksama. Hasil perhitungan batas deteksi deksametason sebesar 0,2068 bpj dan batas kuantitasi sebesar 0,6894 bpj sedangkan untuk deksklorfeniramin maleat memiliki batas deteksi sebesar 0,5922 bpj dan batas kuantitasi sebesar 1,9740 bpj. Hasil perhitungan batas deteksi (BD) dan batas kuantitasi (BK) dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

c. Uji akurasi

Uji akurasi dilakukan untuk mengetahui kedekatan hasil penetapan yang diperoleh dengan hasil sebenarnya. Uji akurasi diperoleh dengan uji perolehan kembali yang dilakukan dengan sampel simulasi. Uji perolehan kembali dilakukan dengan membuat sampel simulasi dengan baku deksametason dan deksklorfeniramin

maleat pada konsentrasi 80%, 100%, dan 120% dari kadar yang tertera pada label. Kadar yang tertera pada label sebesar 0,5 mg deksametason dan 2 mg deksklorfeniramin maleat. Hasil uji akurasi diperoleh data untuk deksametason nilai persen perolehan kembali sebesar 97,54%, 99, 84%, dan 100,77%, sedangkan untuk deksklorfeniramin maleat nilai persen perolehan kembali sebesar 99,1%, 100,0%, dan 100,5%. Dari hasil tersebut memenuhi persyaratan akurasi yaitu nilai persen perolehan kembali diantara 97 - 103 % dan menunjukkan presisi yang baik dengan nilai koefisien variasi tidak melebihi 2 % (Harmita, 2006).

d. Uji presisi

Presisi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel. Kriteria presisi diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi (KV) 2% atau kurang (Harmita, 2006). Hasil dari perhitungan presisi untuk deksametason dan deksklorfeniramin maleat sebesar 0,4874 % dan 0,1424%.

Hasil dari parameter validasi metode analisis yang telah dilakukan secara keseluruhan telah memenuhi persyaratan yang ditetapkan dan menunjukkan hasil yang valid untuk penetapan kadar deksametason dan deksklorfeniramin maleat pada sediaan sirup campuran menggunakan metode KCKT.

e. Penetapan Kadar Sampel

Pada penelitian ini sampel yang digunakan yaitu salah satu merk sediaan sirup obat yang ada dipasaran dengan komposisi tiap 5 mL mengandung deksametason 0,5 mg dan deksklorfeniramin maleat 2 mg. Berdasarkan hasil penelitian, maka diperoleh tiap 5 mL sampel batch 1 dan batch 2 secara berturut-turut mengandung kadar deksametason sebesar 103,383% dan 102,626% sedangkan deksklorfeniramin maleat sebesar 102,454% dan 99,349%. Nilai kadar yang diperoleh memenuhi persyaratan yang tertera pada farmakope edisi IV yaitu deksametason dan deksklorfeniramin maleat berada pada rentang 90,0–110,0%.

F. Kesimpulan dan Saran

1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dengan 2 *batch* sampel yang beredar dipasaran, deksametason mengandung kadar sebesar 103,383% dan 102,626% sedangkan deksklorfeniramin maleat sebesar 102,454% dan 99,349% memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan didalam farmakope edisi V dimana keduanya berada pada rentang 90,0-110,0%. Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa metode kromatografi cair kinerja tinggi untuk penetapan kadar deksametason dan deksklorfeniramin maleat secara simultan pada sediaan sirup merupakan metode yang baik digunakan dan dapat menghasilkan ketelitian dan ketepatan yang baik.\

2. Saran

Untuk penelitian selanjutnya diharapkan untuk melakukan uji reproduibilitas dan uji ketangguhan pada sampel.

G. Daftar Pustaka

Chan, C., Lam, H., Lee, Y., dan Zhang X. 2004. Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification. 16. USA: John Wiley & Sons. Inc.

Darwis, w., Fadia, H dan Abdelaziz El. 2015. Development of Three Methods for Simultaneous Quantitative Determination of Chlorpheniramine Maleate and Dexamethasone in the Presence of Parabens in Oral Liquids. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 14 (1): 153-161. Jeddah: Cairo University.

Gandjar, I,G dan Rohman, A. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

Gandjar, I.G. dan Rohman, A. 2012. Analisis Obat secara Spektroskopi dan Kromatografi. 70-72. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Volume I No. 3. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA UI.

Ibrahim, Slamet. 2007. Makalah Pengembangan dan Validasi Metode Analisis. Bandung: Farmasi ITB Press.

Ibrahim, S. 1998. Pengembangan metode analisis menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi. Seminar on HPLC Application for Analysis of Drugs, Food, and Environment. Bandung: ITB Press.

International Conference on Harmonisation of Technical Requirements

for Registration of Pharmaceutical for Human use. 2005. ICH *Harmonised Tripartite Guideline Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology* Q2 (RI). ICH.

Nugroho, Arif. Wahyono, Hendro. Dan Fatimah, S. 2006. "Validasi Metode Alat ICP-AES Plasma 40 untuk Pengukuran Unsur CR, P, Ti". *Jurnal Pusat Teknologi Bahan Bakar Nuklir, BATAN*.12, (2), 100-107.

Johnson, E,L., dan Stevenson, R. 1991. Basic Liquid Chromatography. Penerjemah Kosasih Padmawinata, *Dasar Kromatografi Cair*. Bandung: ITB Press.

Kemenkes RI. 2014. Farmakope Indonesia Edisi V. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.

Rohman, Abdul. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

Suherman, K.S. 2007. Adrenokortikotropin, Adrenokortikosteroid, Analog-Sintetik dan Antagonisnya. Dalam Farmakologi dan Terapi. Edisi kelima. Bagian Farmakologi FKUI. Editor: Gunawan, S.G. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia Press. Hal. 505-506.

Syarif, Syarifa Andiana. 2009 . Penerapan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) pada Penetapan Kadar Deksklorfeniramin Maleat. Medan: Skripsi Universitas Sumatera Utara.

Tan, T,H,, dan Rahardja, K. 2002. Obat-Obat Penting Edisi V. Cetakan ke-2. Jakarta: PT Gramedia.

Udin, S dan Hedi, R, D. 2007. Histamine and antialergi, Dalam *Darmakologi dan Terapi Edisi Kelima*. Bagian Farmakologi FKUI. Jakarta: UI Press.

Wulandari, N. 2007. Validasi Metode Spektrofotometri Derivatif Ultraviolet untuk penentuan Reserpin dalam tablet obat. Skripsi. Bogor: FMIPA IPB Press.