

VALIDASI METODE ANALISIS UNTUK PENETAPAN KADAR PARASETAMOL DALAM SEDIAAN TABLET SECARA SPEKTROFOTOMETRI ULTRAVIOLET

Grace Pricilia Tulandi¹⁾, Sri Sudewi¹⁾, Widya Astuty Lolo¹⁾
Prodi Farmasi, FMIPA, UNSRAT, Manado

ABSTRACT

Now a days, many people in society prefer to use branded medicine compare to generic ones. They think that branded medicine is more efficacious the generic medicine. The lack of knowledge in the society about the equality of effectiveness between generic medicine and branded medicine with the same active material, cause them to choose branded medicine. This research aiming to determine the paracetamol content in tablet preparations and the validation test using ultraviolet spectrophotometer analysis. From the analysis validation result , precision and accuration method were obtained, that qualited the analysis validation requirements, that is 0,0595 for standard deviation (SD) value, 0,0048 fr variation coefficient value, and 99,0795 % for accuration method. $r = 0,9982$ were obtained as linearity value with 1,4684 ppm as detection limit and 4,8985 as quantity limit. The average result from the paracetamol content determination from generic and branded medicine successively are $3,034 \pm 0,294$ ppm; $3,049 \pm 0,070$ ppm; $3,019 \pm 0,199$ ppm; $3,079 \pm 0,139$ ppm.

Keyword : Paracetamol, Validation, Ultraviolet Spectrophotometer.

ABSTRAK

Saat ini banyak masyarakat yang lebih memilih menggunakan obat merek dagang dibandingkan obat generik. Mereka menganggap bahwa obat merek dagang lebih berkhasiat dibanding obat generik. Kurangnya pengetahuan masyarakat tentang efektifitas yang sama antara obat generik dengan obat merek dagang yang memiliki bahan aktif yang sama, menyebabkan mereka lebih memilih menggunakan obat dengan merek dagang. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menetapkan kadar parasetamol dalam sediaan tablet dan uji validasinya menggunakan metode analisis spektrofotometri ultraviolet. Hasil validasi analisis yang dilakukan didapat presisi dan akurasi metode yang memenuhi persyaratan validasi analisis, yaitu untuk nilai standar deviasi (SD) sebesar 0,0595; koefisien variasi (KV) sebesar 0,0048 dan akurasi metode sebesar 99,0795%. Diperoleh nilai linearitas sebesar $r = 0,9982$ dengan batas deteksi 1,4684 ppm dan batas kuantitasi 4,8945 ppm. Hasil rata-rata penetapan kadar parasetamol generik dan merek dagang secara berturut-turut adalah $3,034 \pm 0,294$ ppm; $3,049 \pm 0,070$ ppm; $3,019 \pm 0,199$ ppm; $3,079 \pm 0,139$ ppm.

Kata kunci : Parasetamol, Validasi, Spektrofotometri Ultraviolet.

PENDAHULUAN

Obat adalah salah satu unsur penting dan paling tepat untuk pelaksanaan upaya kesehatan, terutama untuk upaya pencegahan dan penyembuhan. Pemilihan parasetamol sebagai objek penelitian disebabkan karena parasetamol merupakan salah satu obat analgetik - antipiretik yang banyak digunakan khususnya di fasilitas pelayanan kesehatan pemerintah, karena selain harganya yang terjangkau juga memiliki aktivitas yang mampu menekan fungsi sistem saraf pusat secara selektif dan relatif aman dengan penggunaan dosis terapi. Pada industri Farmasi, pengawasan mutu merupakan salah satu bagian dari Cara Pembuatan Obat yang Baik (CPOB) untuk memberikan kepastian bahwa produk mempunyai mutu yang sesuai dengan tujuan pemakaiannya, agar hasil produksi yang dipasarkan memenuhi persyaratan CPOB. Pada persyaratan ini perlu dilakukan penetapan kadar parasetamol dalam tablet, yang menurut persyaratan Farmakope Indonesia (FI) Edisi IV tahun 1995 yaitu tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%.

Penetapan kadar parasetamol dalam suatu sediaan dibutuhkan metode yang teliti dan akurat. Oleh karena itu terlebih dahulu perlu dilakukan validasi dimana prosedur ini digunakan untuk

membuktikan bahwa metode analisis memberikan hasil seperti yang diharapkan dengan kecermatan dan ketelitian yang memadai.

Penelitian ini menggunakan metode spektrofotometri ultraviolet. Parasetamol mudah larut dalam air mendidih, sangat mudah larut dalam kloroform, larut dalam etanol, metanol, dimetil formamida, aseton dan etil asetat, praktis tidak larut dalam benzen (Ditjen POM, 1995). Berdasarkan kelarutan dalam metanol, maka dilakukan modifikasi penetapan kadar parasetamol dengan menggunakan pelarut metanol.

METODELOGI PENELITIAN

Pembuatan Larutan Baku Parasetamol Konsentrasi 330 ppm

Sebanyak 16,6 mg parasetamol baku dimasukkan dalam labu takar 50 mL dan dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas sehingga akan diperoleh konsentrasi 330 ppm. Dari larutan baku konsentrasi 330 ppm inilah yang akan digunakan untuk pembuatan seri konsentrasi.

Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Dipipet 0,36 mL dari larutan induk kemudian dimasukkan dalam labu takar 10 mL, diencerkan dengan metanol sampai

tanda batas kemudian larutan tersebut dikocok hingga homogen dan dimasukkan kedalam kuvet kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 200-400 nm.

Penetapan Operating Time

Dari larutan baku Parasetamol 330 ppm dibuat larutan baku dengan konsentrasi 12,0 ppm dengan cara seperti pada pembuatan seri konsentrasi. Larutan baku dengan konsentrasi 12,0 ppm tersebut dikocok hingga homogen dan dimasukkan ke dalam kuvet kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum sampai diperoleh absorbansi yang relatif konstan dengan rentang pembacaan setiap 1 menit sekali.

Pembuatan Kurva Baku

Larutan baku dengan seri konsentarsi 3,0; 6,0; 9,0; 12,0; dan 15,0 ppm didiamkan selama waktu *operating time* kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Dari data hasil absorbansi, selanjutnya dihitung persamaan kurva bakunya sehingga diperoleh persamaan garis $y = bx + a$.

Ketelitian (Precision)

Dari larutan baku parasetamol 330 ppm dibuat larutan baku dengan

konsentrasi 12,0 ppm dengan cara seperti pada pembuatan seri konsentrasi. Larutan baku parasetamol dengan konsentrasi 12,0 ppm tersebut didiamkan selama waktu *operating time* kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Uji ketelitian ini dilakukan dengan lima kali pengulangan.

Ketepatan (Accuracy)

Ditimbang setara 16,6 mg serbuk tablet parasetamol sampel secara duplo dan masing-masing dimasukkan ke dalam labu takar. Pada salah satu labu takar ditambahkan 2 mL larutan baku Parasetamol dengan konsentrasi 330 ppm. Kedua sampel selanjutnya mengalami perlakuan yang sama yaitu ditambahkan metanol hingga volumenya 50 mL. Dikocok hingga homogen kemudian dari masing-masing larutan tersebut diambil 0,09 mL dan diencerkan dengan metanol hingga volumenya tepat 10 mL lalu dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dan *operating time*. Uji ketepatan metode dilakukan dengan penambahan larutan baku 330 ppm dengan pengulangan sebanyak 5 kali. Hasil absorbansi digunakan untuk menghitung harga perolehan kembali (*recovery*).

Penetapan Kadar Sampel

Ditimbang 16,6 mg zat aktif parasetamol lalu larutkan dengan metanol hingga volumenya 50 mL dari larutan tersebut diencerkan dengan metanol seperti pada pembuatan seri konsentrasi hingga 3 ppm. Selanjutnya, dua puluh tablet yang telah memenuhi keseragaman bobot kemudian digerus hingga halus dan homogen. Sampel serbuk ditimbang dan dilarutkan, buat perhitungan penimbangan sampel untuk menentukan berat sampel dan volume larutan yang dibutuhkan masing-masing sampel dan larutkan hingga konsentrasi 330 ppm lalu encerkan hingga konsentrasi 3 ppm, kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dan *operating time*. Penetapan kadar dilakukan dengan pengulangan sebanyak tiga kali dan dilakukan terhadap dua sampel tablet parasetamol merek dagang dan dua sampel tablet parasetamol generik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Larutan Baku Parasetamol

Larutan baku parasetamol dengan konsentrasi tertentu dibuat dengan cara melarutkan bahan parasetamol tersebut kedalam pelarut yang digunakan. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah metanol. Penggunaan metanol sebagai pelarut karena parasetamol larut dalam

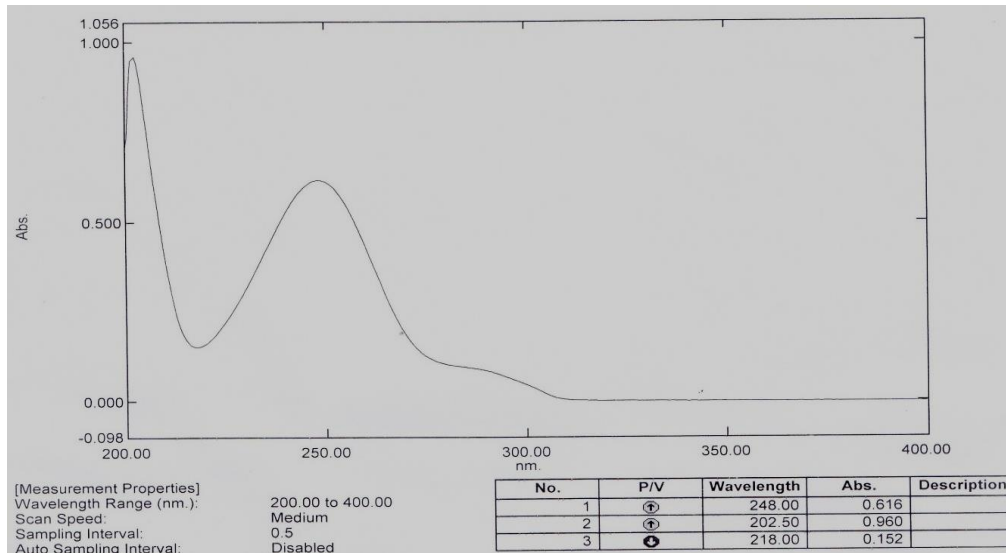
metanol. Selain itu juga, diketahui metanol memiliki serapan pada panjang gelombang dibawah 210 nm, sehingga metanol akan meneruskan atau tidak akan menyerap sinar dengan panjang gelombang diatas 210 nm, akibatnya metanol tidak akan mengganggu spektrum serapan dari parasetamol.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Pada Parasetamol

Panjang gelombang maksimum (λ maks) merupakan panjang gelombang dimana terjadi eksitasi elektronik yang memberikan absorbansi maksimum. Alasan dilakukan pengukuran pada panjang gelombang maksimum adalah perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah paling besar pada panjang gelombang maksimum, sehingga akan diperoleh kepekaan analisis yang maksimum. Penentuan panjang gelombang pada penelitian ini dilakukan dengan mengukur absorbansi dari parasetamol pada panjang gelombang ultraviolet yaitu antara panjang gelombang 200 nm – 400 nm. Dari hasil penelitian yang diperoleh panjang gelombang maksimum adalah 248 nm. Secara teoritis serapan maksimum untuk parasetamol adalah 244 nm, terjadi pergeseran karena pada parasetamol memiliki gugus auktokrom yang terikat pada gugus kromofor. Apabila Auktokrom

terikat pada gugus kromofor akan mengakibatkan pergeseran pita absorpsi menuju ke panjang gelombang yang lebih besar (pergeseran batokromik) disertai

dengan peningkatan intensitas (hiperkromik).



Panjang Gelombang Maksimum Parasetamol

Penentuan operating time

Penentuan *operating time* yang bertujuan untuk mengetahui lama waktu yang dibutuhkan larutan untuk mencapai absorpsi konstan. Optimasi waktu kestabilan ini ditentukan dengan mengukur absorpsi dari larutan baku parasetamol pada panjang gelombang maksimum yaitu

248 nm dengan waktu 0 - 10 menit menggunakan spektrofotometer ultraviolet. Dari hasil penelitian yang dilakukan diperoleh *operating time* setelah optimasi waktu hingga menit ke-6 karena hasil absorpsinya relatif konstan. Optimasi waktu kestabilan dapat dilihat pada tabel.

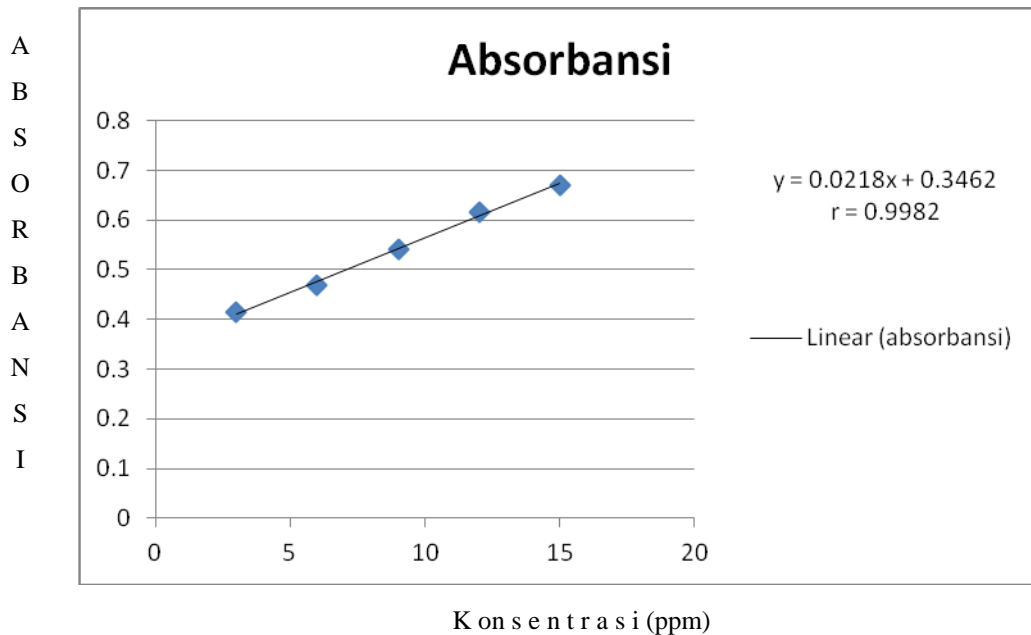
Tabel 1. Data Hasil Penentuan Operating Time.

Waktu (Menit)	Absorbansi
0,0	0,61
1.0	0,61
2,0	0,61
3,0	0,61
4,0	0,61

5,0	0,61
6,0	0,61
7,0	0,62
8,0	0,62
9,0	0,62
10,0	0,62

Kurva baku adalah kurva yang diperoleh dengan memplotkan nilai absorbansi dengan konsentrasi larutan standar yang bervariasi menggunakan panjang gelombang maksimum. Kurva ini merupakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi. Bila hukum Lambert-Beer terpenuhi maka kurva kalibrasi

berupa garis lurus. Pada pembuatan kurva baku ini digunakan persamaan garis yang diperoleh dari metode kuadrat terkecil yaitu $y = bx + a$, Persamaan ini akan menghasilkan koefisien korelasi (r). Nilai koefisien korelasi yang memenuhi persyaratan adalah lebih dari 0,9770.



Gambar 1. Kurva baku

Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ).

Setelah mendapatkan kurva kalibrasi yang memenuhi persyaratan analisis, selanjutnya data yang diperoleh dari konsentrasi tiap analit yang memberikan absorbansi berbeda untuk diolah untuk menentukan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitas (LOQ). Pada penelitian ini memberikan harga LOD yang didapat sebesar 1,4684 ppm yang artinya pada konsentrasi tersebut masih dapat dilakukan pengukuran sampel yang memberikan hasil ketelitian suatu alat berdasarkan tingkat akurasi individual hasil analisis. Sedangkan, harga LOQ sebesar 4,8945 ppm artinya pada konsentrasi tersebut bila dilakukan pengukuran masih dapat memberikan kecermatan analisis.

Tabel 2. Nilai LOD dan LOQ

$\sum(Y-Y_i)^2$	0,0004556
SB	0,0107
LOD (ppm)	1,4684
LOQ (ppm)	4,8945

Ketelitian Atau Presisi Parasetamol

Presisi seringkali diukur sebagai persen Relative Standard Deviation (RSD) atau Coefficient of Variation (CV) untuk sejumlah sampel yang berbeda bermakna secara statistik. Kriteria presisi diberikan jika

metode memberikan nilai CV 2% atau kurang (Harmita, 2004). Hasil pengujian presisi dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 3. Data Ketelitian Hasil Uji Presisi Parasetamol.

Pengulangan	Absorbansi	Kadar (ppm)
1	0,616	12,376
2	0,617	12,422
3	0,619	12,513
4	0,618	12,468
5	0,619	12,513
RATA-RATA		12,458
SD		0,059
KV		0,005
KETELITIAN ALAT		99,995

Harmita tahun 2004, menjelaskan bahwa ketepatan pada dasarnya adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Range nilai persen (%) *recovery* analit yang dapat diterima adalah 90-110%. Range tersebut bersifat fleksibel tergantung dari kondisi analit yang diperiksa berdasarkan jumlah sampel dan kondisi laboratorium. Berikut ini adalah tabel data ketepatan atau *Accuracy* :

Tabel 4. Data Ketepatan atau Accuracy Parasetamol

Pengulangan	Absorbansi		Konsentrasi		% Recovery $\frac{A-B}{C} \times 100\%$
	Sebelum	Sesudah + baku 2mL	Sebelum Penambahan	Sesudah Penambahan	
1	0,408	0,451	2,835	4,807	98,630%
2	0,409	0,452	2,881	4,853	98,625%
3	0,410	0,454	2,927	4,945	100,918%
4	0,412	0,455	3,018	4,990	98,600%
5	0,414	0,457	3,110	5,083	98,625%
RATA-RATA					99,079%

Tabel 5. Hasil Penetapan Kadar Parasetamol Pada Sediaan Tablet.

Sampel	ABS	Konsentrasi	Kadar (%)	Kadar Rata-Rata Sampel (%)	Kadar Rata-Rata Sampel (ppm)	Keterangan
Parasetamol	0,409	2,881	96,024			
Generik (A)	0,413	3,064	100,612	100,612	3,034 ± 0,294	Terdeteksi
	0415	3,156	105,199			
Parasetamol	0,411	2,973	99,083			
Generik (B)	0,414	3,110	103,666	101,627	3,049 ± 0,070	Terdeteksi
	0,413	3,064	102,133			
Parasetamol	0,410	2,927	97,554			
Merek (C)	0,409	2,881	96,024	100,612	3,019 ± 0,199	Terdeteksi
	0,417	3,246	108,257			
Parasetamol	0,410	2,927	97,554			
Merek (D)	0,414	3,110	103,666	102,651	3,079 ± 0,139	Terdeteksi
	0,416	3,202	106,733			

Penetapan kadar ini bertujuan untuk menjamin mutu serta keamanan suatu produk obat. Pada penetapan kadar parasetamol ini digunakan limit deteksi (LOD) untuk melihat konsentrasi terendah yang masih dapat terdeteksi oleh suatu alat.

Perbedaan kadar tablet terlihat pada keempat sampel parasetamol ini. Ini dapat terjadi karena perbedaan metode produksi dari masing-masing produsen, termasuk pemilihan bahan tambahan tablet yang digunakan. Beberapa bahan tambahan yang mungkin akan berpengaruh terhadap hasil absorbansi sehingga akan berpengaruh juga

terhadap kadar yang terukur. Dengan adanya perbedaan kadar dalam tablet parasetamol generik dan parasetamol merek, maka dimungkinkan akan terdapat perbedaan kadar yang terabsorpsi kedalam darah. Kadar obat dalam darah akan menunjukkan banyaknya obat yang berikatan dengan reseptor hingga menimbulkan efek terapi yang dihasilkan sehingga tablet parasetamol generik dan merek mempunyai efek terapi yang berbeda.

Pada keempat sampel tersebut menunjukkan kadar rata-rata yang sesuai menurut persyaratan Farmakope Indonesia

(FI) Edisi IV tahun 1995 yaitu tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Hasil validasi analisis yang dilakukan didapat presisi dan akurasi metode yang memenuhi persyaratan validasi analisis, yaitu untuk nilai SD sebesar 0,0595; KV sebesar 0,0048 dan akurasi metode sebesar 99,0795%. Diperoleh nilai linearitas sebesar $r = 0,9982$ dengan batas deteksi 1,4684 ppm dan batas kuantitasi 4,8945 ppm.
2. Hasil rata-rata penetapan kadar parasetamol generik dan merek dagang secara berturut-turut adalah $3,034 \pm 0,294$ ppm; $3,049 \pm 0,070$ ppm; $3,019 \pm 0,199$ ppm; $3,079 \pm 0,139$ ppm.
3. Kadar parasetamol generik dan merek dagang memenuhi persyaratan yang ditetapkan pada Farmakope Indonesia (FI) Edisi IV tahun 1995 yaitu tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0%

SARAN

Perlu dilakukan penelitian validasi metode tentang penetapan kadar parasetamol menggunakan metode yang lain misalnya metode spektrofotometri sinar tampak .

DAFTAR PUSTAKA

- Cranswick, N., Coghlan D. 2000. *Paracetamol Efficacy and Safety In Children The First 40 Years*. Clinical Pharmacologist, Royal Children's Hospital : Victoria.
- Dachriyanus.2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*,

Edisi I. Penerbit Andalas University Press : Padang.

Departemen Farmakologi dan Terapeutik. 2007. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi V. Fakultas Kedokteran UI : Jakarta.

Dirjen POM. 1995. *Farmakope Indonesia*, Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.

Gandjar, I.G., dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Cetakan II : Yogyakarta.

Harmita. 2004. *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. Didalam: Majalah Ilmu Kefarmasian, Desember. Vol. 1, No.3, pp. 117 – 135. Departemen Farmasi FMIPA-UI : Jakarta.

Lusiana Darsono. 2002. *Diagnosis dan Terapi Intoksikasi Salisilat dan Parasetamol*. Farmakologi Dasar dan Klinik Buku 3 Edisi 8. Salemba Medika : Surabaya.

Moffat, A.c, dkk. 2005. *Clarke's Analysis Of Drug and Poisons Thirth Edition*. Pharmaceutical Press Electronic Version : London.

Mulja, M., and Suharman. 1995. *Analisis Instrumental*. Airlangga University Press: Surabaya. Hal 2,6,33-34.

Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi*. Pustaka Pelajar : Yogyakarta.

Satiadarma, K. 2004. *Azas Pengembangan Prosedur Analisis*. Airlangga University Press : Surabaya. Hal 300. 303.

Tan, H.T dan Raharja, K. 2010. *Obat-Obatan Sederhana Untuk Gangguan Sehari-*

hari. Elek Media Komputindo :
Jakarta.

WHO. (1992). *The International
Pharmacopeia*. Edisi ke-empat.
Electronic Version Geneva :World
Health Organization. Hal 98.