

DETERMINASI ZAT PARACETAMOL PADA BERBAGAI SEDIAAN OBAT DENGAN METODE HPLC: LITERATURE REVIEW ARTICLE

Aprilia Kuswanti

Received: October 2024; Revised: October 2024; Accepted: December 2024; Available online: December 2024

ABSTRACT

Paracetamol is often used as an analgesic and antipyretic to treat fever and various levels of pain, ranging from mild to postoperative pain. Paracetamol is considered the safest painkiller, so many people use it. This study is a qualitative research using the Literature Review Article method with the aim of determining the level of determination of the paracetamol using the HPLC method. Measurement of the concentration of a drug requires a test method that provides a good end result and guarantees accuracy and precision. Determination of paracetamol levels based on standards is carried out by the HPLC (High Performance Liquid Chromatography) method using the mobile phase of water and methanol p (3: 1). HPLC is equipped with a detector that has a wavelength of 243 nm and a column of 3.9 mm × 30 cm containing filler material. This research can be used as an initial stage for the development of trials of such drugs in human plasma. Validation is carried out in accordance with the guidelines of the International Conference on Harmonization (ICH) whose results are linear, accurate, precise, specific and robust.

Keywords: Paracetamol, HPLC, Detemination

ABSTRAK

Parasetamol sering digunakan sebagai analgetik dan antipiretik untuk mengobati demam dan berbagai tingkat nyeri, mulai dari yang ringan hingga nyeri pascaoperasi. Parasetamol dianggap sebagai obat antinyeri yang paling aman, sehingga banyak orang yang menggunakan. Pada penelitian ini merupakan penelitian kualitatif menggunakan metode LRA atau *Literature Review Article* dengan tujuan untuk mengetahui kadar determinasi parasetamol menggunakan metode HPLC. Pengukuran konsentrasi suatu obat memerlukan metode pengujian yang memberikan hasil akhir yang baik serta menjamin keakuratan dan presisi. Penetapan kadar parasetamol berdasarkan standar dilakukan dengan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) menggunakan fasa gerak air dan metanol p (3:1). HPLC dilengkapi dengan detektor yang memiliki panjang gelombang 243 nm dan kolom 3,9 mm × 30 cm berisi bahan pengisi. Penelitian ini dapat digunakan sebagai tahap awal untuk pengembangan uji obat tersebut dalam plasma manusia. Validasi adalah dilakukan sesuai dengan pedoman *International Conference on Harmonization* (ICH) yang hasilnya linier, akurat, tepat, spesifik dan kuat.

Kata kunci: Parasetamol, HPLC, Deteminasni

PENDAHULUAN

Paracetamol adalah obat yang berfungsi sebagai analgesik-antipiretik untuk meredakan nyeri dan menurunkan demam. Hidrolisis adalah proses degradasi utama paracetamol selama penyimpanan, yang menyebabkannya menjadi 4-aminofenol yang beracun (Zulkarnain, 2014). Paracetamol sering digunakan sebagai analgetik dan antipiretik untuk mengobati demam dan berbagai tingkat nyeri, mulai dari yang ringan hingga nyeri pascaoperasi. Paracetamol dianggap sebagai obat antinyeri yang paling aman, sehingga banyak orang yang menggunakan. Karena paracetamol dalam bentuk larutan, seperti sirup atau suspensi, lebih mudah dipelajari daripada tablet. Paracetamol cair juga lebih mudah digunakan oleh tubuh dan lebih mudah diambil dalam jumlah besar (Rosalina, 2018).

Syarat obat memenuhi standar kualitas yang ditetapkan dalam Farmakope Indonesia atau panduan standar lainnya yang berkaitan dengan sediaan obat, kualitasnya dapat dianggap baik dan akan mendukung pencapaian efek terapeutik yang diinginkan (Yuliantini et al., 2017). Suatu metode pengukuran kadar diperlukan untuk menetapkan kadar obat. Metode ini harus menghasilkan hasil yang optimal sambil tetap presisi dan akurasi. Sebagai fase gerak, campuran air:methanol pada perbandingan 3:1 serta dilakukan dengan teknik HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) digunakan untuk mengukur kadar paracetamol dalam Farmakope Indonesia Edisi VI (2020) (Harmita, 2015).

HPLC adalah metode analisis kromatografi cair yang digunakan untuk keperluan analisis kuantitatif (misalnya, menghitung jumlah senyawa dalam larutan) dan kualitatif (misalnya, pemisahan senyawa). Prinsip dasar HPLC terdiri dari penyuntikan sampel cair ke dalam kolom yang terdiri dari fase diam dan fase gerak. Kemudian, sampel didorong dengan tekanan tinggi sehingga fase gerak dapat memisahkan bagian sampel dari kolom. Dengan metode ini, detektor dapat mendeteksi komponen-komponen tersebut dan menghasilkan puncak dalam kromatogram (Charde et al., 2014). Metode HPLC dipilih karena sensitivitas dan ketepatan tingginya untuk menentukan jumlah senyawa dalam larutan. Analisis yang cepat, kemampuan pemisahan relative baik, dan fleksibilitas dalam pemilihan kolom dan eluen adalah semua hasil dari metode HPLC. Kolom juga dapat digunakan kembali, memungkinkan analisis molekul kecil dan besar. Metode ini dapat digunakan untuk menghitung sampel dan kadar yang sangat rendah karena detektor yang digunakan tidak mengganggu bagian zat yang dianalisis. Selain itu, jika dibandingkan dengan metode analisis lainnya, HPLC menunjukkan sensitivitas (kepekaan) dan spesifikasi (ketelitian) yang tinggi (Harmita, 2015). Maka, *literature review* ini bertujuan untuk mengetahui kadar determinasi paracetamol dalam berbagai sediaan obat menggunakan metode HPLC.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian kualitatif menggunakan metode LRA atau *Literature Review Article* untuk mengetahui hasil determinasi paracetamol menggunakan metode HPLC. Pencarian literatur dengan menggunakan sumber data elektronik yaitu ScienceDirect, Google Scholar, researchgate, DOAJ, Hindawi dan PubMed menggunakan kata kunci "HPLC", "*High Performance Liquid Chromatography*", "determinasi paracetamol", "metode HPLC", "paracetamol", dan "analisis paracetamol".

Artikel literatur yang diambil memenuhi kriteria inklusi merupakan artikel 10 tahun terakhir, yaitu artikel sejak tahun 2013 dan kriteria eksklusi merupakan artikel yang tidak sesuai tema dan dilakukan evaluasi. Artikel yang telah memenuhi kriteria inklusi adalah artikel yang membahas mengenai determinasi senyawa paracetamol menggunakan metode HPLC.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran konsentrasi suatu obat memerlukan metode pengujian yang memberikan hasil akhir yang baik serta menjamin keakuratan dan presisi. Menurut Farmakope Indonesia Edisi VI (2020), metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) digunakan untuk menentukan kadar dengan menggunakan fasa gerak air dan metanol p. (3:1). Detektor HPLC memiliki panjang gelombang 243 nm dan kolom 3,9 mm × 30 cm berisi bahan pengisi.

Secara teoritis, paracetamol mempunyai serapan maksimal pada 244 nm. Jika terjadi perbedaan yang pada gelombang maksimum kemungkinan dapat disebabkan oleh adanya pergeseran pita serapan paracetamol. Pergeseran pita serapan dapat disebabkan karena pada struktur molekul paracetamol terdapat gugus pewarna tambahan yang terikat pada gugus kromofor. Ketika gugus pigmen pembantu menempel pada gugus kromofor, terjadi pergeseran merah (penggelapan) atau pergeseran intensitas serapan pita serapan ke panjang gelombang yang lebih panjang, juga dikenal sebagai efek hiperkromik

(Sayuthi & Kurniawati, 2017). Pemisahan zat aktif paracetamol menggunakan HPLC yang dibaca oleh detektor ialah waktu retensi (t_R) serta kalkulasi area (y) puncak sehingga diperoleh kurva kalibrasi dan korelasi koefisien (R^2).

Zat paracetamol dengan kekuatan dosis 500 mg dalam tablet Panadol Extra (GSK) yang dikombinasi dengan kafein (65 mg) dideterminasi menggunakan metode HPLC. Fraksinasi kromatografik yang digunakan yaitu C₁₈ (5 μ m, 4,6 × 150 mm) dengan suhu 35°C. Fasa gerak yang digunakan dalam penelitian yaitu metanol dan air dengan perbandingan 40:60 v/v pada laju air 0,8 mL/menit di bawah elusi isokratik ketika UV detektor pada 264 nm. Hasil penelitian menunjukkan retensi waktu (t_R) paracetamol yaitu 2,6 ± 0,001 menit saat mencapai area puncak. Kurva kalibrasi standar paracetamol diperoleh dengan memplot area puncak terhadap konsentrasi dalam kisaran 15–300 μ g/mL, hasil regresi linear yang diperoleh yaitu $y = 27811,18x + 14735,54$ dengan R^2 yaitu 1. Aplikasi metode HPLC dalam mendeteksi paracetamol dalam tablet Panadol Extra setelah diekstraksi ditemukan 97% paracetamol yang diklaim dengan kekuatan dosis 500 mg. Pada penelitian ini dibuktikan bahwa paracetamol mengalami degradasi *reversible* moderat saat mengalami stress oksidatif serta menegaskan bahwa metode HPLC spesifik, linier, akurat, tepat dan kuat (Aminu *et al.*, 2019).

Senyawa aktif paracetamol yang terkandung dalam Jamu Pegal Linu dianalisis secara kuantitatif yang dikonduksi menggunakan metode HPLC. Pemisahan paracetamol menggunakan pelarut metanol dan air (7:3 v/v) dengan fasa diam berupa kolom oktadekilsilan (C₁₈). Pada kolom, laju air yaitu 1,0 mL/menit ketika panjang gelombang detektor UV SPD 20A pada 254 nm. Hasil yang ditunjukkan pada pemisahan paracetamol pada sampel yaitu memiliki waktu retensi pada 5,284 menit antara standar referensi dan sampel, serta memiliki area (y) 14894106. Namun, berdasarkan regulasi POM RI No.KH.00.01.43.2773/2008 dalam Obat Tradisional Mengandung Bahan Kimia Obat, senyawa paracetamol sebaiknya tidak terkandung dalam obat tradisional (Pratama *et al.*, 2022).

Zat aktif paracetamol dalam tablet Comtrex dideterminasi menggunakan metode HPLC-UV. Pemisahan ini menggunakan fasa diam berupa kolom ZorbaxSB-C₁₈ dengan fasa gerak air dan asetonitril (75:25 v/v) pH 3,2. Laju air yaitu 0,7 ml per menit dengan volume yang diinjeksikan 20 μ L dan dideteksi pada 210 nm. Pemisahan zat dalam tablet Comtrex, terutama paracetamol dilakukan dalam waktu 4 menit dengan waktu retensi yaitu 3,414 menit. Variasi jangkauan linearitas yang ditemukan pada paracetamol yaitu 5,0–100 μ g/ml dengan koefisien relasi 1,00. Hubungan antara linear dengan kurva kalibrasi dikonfirmasi oleh nilai koefisien relasi yang mendekati kesatuan (Youssef *et al.*, 2019).

Penelitian terhadap senyawa paracetamol dikembangkan dan divalidasi selama bioremediasi mikroalga, yang dianalisis secara kuantitatif menggunakan metode RP-HPLC. Metode ini merupakan pemisahan asam amino berdasarkan hidrofobisitasnya dengan non-polar sebagai fasa diam dan air sebagai fasa gerak agak polar. Penelitian ini digunakan sebuah injeksi dan empat detektor panjang gelombang ganda UV/VIS. Panjang gelombang UV detektor yang digunakan ialah 230 nm dalam waktu 8 menit untuk memisahkan analit. Fasa gerak dalam pemisahan paracetamol menggunakan campuran *buffer* berupa fosfat dengan pH 7,3 dan asetonitril (50:50 v/v). Hasil pemisahan dengan kromatografik parameter, paracetamol dielusi dengan waktu retensi 1,26 menit dan area puncak 37,15. Di samping itu, korelasi koefisien yang diperoleh dari regresi linear yaitu 0,99994. Sehingga, penelitian ini menunjukkan dengan bukti yang cepat, linear, tepat, kuat, akurat, dan cocok untuk evaluasi mikroalga efisiensi bioremediasi (Encarnacao *et al.*, 2020).

Obat tablet Lusifar yang mengandung paracetamol dianalisis secara kuantitatif menggunakan metode HPLC untuk mendeterminasi residu obat dalam susu ASI. Pada metode ini memerlukan perawatan yang ekstensif terhadap sampel untuk menghilangkan interferensi matriks. Pemisahan ini menggunakan fasa diam berupa pre-kolom Purospher C₁₈ dengan fasa gerak yaitu ammonium asetat, asetonitril, dan metanol (90:5:5, v/v/v) yang dipompa pada laju air 1 ml per menit. Analit dianalisis secara kuantitatif menggunakan panjang gelombang 243 nm. Hasil penelitian paracetamol dalam matriks sederhana atau dalam susu sebagai residu ditemukan dengan waktu retensi 9 menit. Regresi linear terhadap kurva kalibrasi paracetamol yaitu $y=1,0568x + 0,4618$ yaitu y merupakan ratio area puncak pada analit. Sehingga, ditemukan korelasi koefisien 0,999. Oleh karena itu, pada penelitian ini determinasi paracetamol dalam susu murni ataupun bubuk telah divalidasi (Fernandes *et al.*, 2017).

Zat paracetamol yang terkandung dalam tablet Bodrex dianalisis secara kuantitatif menggunakan metode RP-HPLC dengan detektor PDA dengan standar konsentrasi yaitu 200 ppm yang dilakukan dengan panjang gelombang 200 – 400 nm. Pemisahan zat paracetamol dalam penelitian menggunakan

fasa diam berupa kolom Poroshen 120-EC C₁₈ dengan fasa gerak berupa metanol dan air (30:70, v/v) yang dipompa menggunakan kecepatan alir 1 ml per menit. Hasil determinasi parasetamol menggunakan metode ini diperoleh waktu retensi 2,502 menit dengan persamaan regresi linear yaitu $y=14,07x - 56,2$ yang merupakan area puncak pada analit serta nilai koefisien relasi 0,998 (Setyaningrum et al., 2022).

Sediaan obat sirup Unicetamol yang mengandung zat parasetamol dianalisis secara kuantitatif dengan metode HPLC yang menggunakan fasa gerak berupa air dan metanol dengan perbandingan 3:1 v/v. Hasil penelitian parasetamol menunjukkan bahwa panjang gelombang yang diperoleh yaitu 248,08 nm. Hal ini menunjukkan bahwa adanya ketidaksesuaian panjang gelombang dengan ketentuan serapan maksimum zat parasetamol yaitu 244 nm. Fenomena ini terjadi karena adanya pergeseran pita serapan dapat disebabkan karena pada struktur molekul parasetamol terdapat gugus pewarna tambahan yang terikat pada gugus kromofor. Di samping itu, regresi persamaan linear yang diperoleh dari pengukuran analit yaitu $y=12728x - 27217$ serta nilai koefisien relasi 0,9563 (Rahmawati et al., 2023).

Berdasarkan penelitian dengan metode HPLC terhadap 25 mg paracetamol ditambahkan metanol 1 ml dan asam fosfat 0,1% untuk membuat larutan standar paracetamol. Paracetamol pertama mencapai waktu puncak 6,984 menit dengan sumbu y potensial UV berada 3865820, pada paracetamol yang kedua waktu puncaknya berada pada 6,969 menit dengan sumbu y potensial UV berada pada 3868346, pada paracetamol yang ketiga waktu puncak berada pada 6,962 menit dengan sumbu y potensial UV berada pada 3868615, pada paracetamol yang keempat waktu puncak berada pada 6,958 menit dengan sumbu y potensial UV berada pada 3869515, pada paracetamol yang kelima waktu puncak berada pada 6,954 menit dengan sumbu y potensial UV berada pada 3869584, pada paracetamol yang keenam waktu puncak berada pada 6,950 menit dengan sumbu y potensial UV berada pada 3871601. Persen nilai simpangan baku relatif 0,176%, persen penyembuhan pada paracetamol 93-102% dan untuk persamaan linear paracetamol menghasilkan nilai R sebesar 0,9999 (Ardiyanti et al., 2014).

Berdasarkan penelitian (Assali et al., 2020) dengan menggunakan RP-HPLC, parasetamol yang dibutuhkan untuk larutan standar sebanyak 2,5 mg ditambahkan metanol 5 ml. Parasetamol mencapai puncak pada waktu 3,624 menit dengan AU sekitar 0,42 untuk persamaan linear parasetamol menghasilkan nilai R sebesar 0,9983. Berdasarkan hasil parasetamol menunjukkan pemisahan yang baik dari obat yang diuji dengan rentang linear 0,01–0,1 mg/ml yang menunjukkan kesesuaiannya untuk kuantifikasi parasetamol.

Berdasarkan penelitian (Acheampong et al., 2016) dengan menggunakan RP-HPLC, parasetamol mencapai puncak pada waktu 4,2 menit dengan sumbu y mAU berada pada rentang 64. Persamaan linear memiliki rentang 0,99, persen simpangan baku relatif <2.0%, serta persen recovery untuk parasetamol 97,9 – 102,8%. Berdasarkan hasil menunjukkan rentang linear yang cocok untuk estimasi komponen aktif dalam tablet.

Berdasarkan penelitian (Dong et al., 2023) menggunakan metode HPLC PDA, parasetamol mencapai puncak pada waktu 2,39 menit dengan sumbu y mAU berada pada rentang 2,7. Persamaan linear memiliki rentang 0,9999, dan nilai recovery yaitu 95%. Berdasarkan data penentuan parasetamol secara simultan dalam air limbah berkontribusi terhadap optimalisasi dan validasi metode untuk analisis senyawa farmasi dan organik yang akurat dan efisien dalam sampel air dan air limbah.

Berdasarkan penelitian (Sharma et al., 2015) menggunakan metode RP-HPLC, parasetamol mencapai puncak pada waktu 3,087 menit dengan sumbu y mAU berada pada rentang 20, kalibrasi kurva linear 0,9993 pada rentang 6,5–39 µg/mL, serta persen RSD 0,11%. Berdasarkan data metode ini ditemukan kecocokan dan akurat untuk penentuan paracetamol dalam formulasi farmasi.

Berdasarkan penelitian (Dewani et al., 2014) menggunakan metode RP-HPLC-DAD, parasetamol mencapai puncak pada waktu 3,170 menit dengan sumbu y yaitu AU berada pada rentang 155, paracetamol memberikan resolusi baik dengan waktu analisis singkat kurang dari 10 menit. Metode RP-HPLC-DAD berhasil divalidasi untuk penentuan paracetamol secara simultan bersama dengan bahan aktif lain dalam bentuk sediaan tablet.

Dalam penelitian ini digunakan metode HPLC fase terbalik (RP). Pucak paracetamol diketahui berada pada rentensi 4,699 menit. Hasil kurva linearitas parasetamol menunjukkan koefisien korelasi (r^2) sebesar 0,999. Hal ini menunjukkan respons linier yang baik dalam rentang konsentrasi 50% hingga 150% terhadap konsentrasi kerja 100%. Ini menunjukkan bahwa metode HPLC yang dikembangkan cocok untuk mengestimasi jumlah parasetamol dengan akurasi yang tinggi (Arief, et al., 2023).

Analisis paracetamol berdasarkan waktu retensi digunakan untuk mengetahui kandungan parasetamol. Kadar parasetamol ditentukan dengan HPLC dengan waktu retensi 4,44 menit, yang sama dengan waktu retensi puncak standar parasetamol, sampel obat batuk sirup mengandung parasetamol. Hasil ini menunjukkan bahwa sampel obat batuk sirup memiliki kadar parasetamol 102,06%. Dengan demikian, sampel obat batuk sirup memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia V tahun 2014 dan United States Pharmacogenomics V tahun 2014. (Khusnu & Andrianto, 2021).

Penentuan parasetamol dalam sediaan farmasi dalam penelitian ini digunakan metode RP-HPLC. Variabel kromatografi eksperimental dioptimalkan dalam rentang yaitu komposisi fase gerak (rasio %MeOH / %fosfat 20:80 v/v-60:40 v/v), pH (4,0-8,0), konsentrasi fosfat (3-60 mM) dan laju alir (MP) (0,4-1,2 mL/menit). Setelah dioptimasi, kondisi kromatografi terbaik adalah fase gerak fase gerak dengan rasio metanol / fosfat 40: 60 v / v, pH 4,5, konsentrasi fosfat akhir 6 ppm dan laju alir 1 mL/menit (elusi isokratik). Kromatografi tetap lainnya parameter lainnya adalah suhu kamar, panjang gelombang deteksi pada 210 nm dan volume injeksi dari 20 liter. Penambahan fosfat memungkinkan kita untuk mengontrol efek potensial ionik kekuatan fase gerak (Pereira *et al.*, 2021).

Pada penelitian ini dilakukan dengan membandingkan waktu retensi baku dengan sampel selama persiapan sampel hingga siap untuk diukur dengan alat HPLC. Parameter UKS digunakan untuk parameter presisi untuk dua data di antaranya waktu retensi dan luas area. Untuk sampel pertama dan ketiga, waktu retensi adalah 0,16 dengan luas area masing-masing 0,89 dan 0,56. Parameter presisi memenuhi syarat pada hari pertama dan ketiga ($RSD < 2$). Dengan waktu retensi parasetamol BPFI baku 2,907 menit dan waktu retensi sampel 2,89 menit, dapat disimpulkan bahwa sampel tersebut benar-benar mengandung parasetamol (Ulfa *et al.*, 2019).

Dalam penelitian ini Metode UHPLC dikembangkan dan divalidasi untuk penentuan Paracetamol dalam sediaan obat. linier pada rentang konsentrasi 161,59-484,77 μ g/mL untuk parasetamol, regresi linear dan korelasi nilai adalah 0,999. Fase gerak yang terdiri dari asetonitril dan asam ortofosfat 0,05% yang sebelumnya diatur hingga pH 6,0 dengan trietilamina (30:70 v/v). laju aliran disesuaikan menjadi 0,5 mL/menit dan deteksi UV pada 270 nm dipilih untuk analisis pada uji pendahuluan. Waktu retensi zat parasetamol ditemukan pada 0,94 menit. Metode ini diketahui akurat untuk penentuan paracetamol (Kumari *et al.*, 2017).

Dalam penelitian ini, metode RP-HPLC hijau sederhana yang inovatif dan hemat waktu menggunakan gliserol sebagai fase gerak hijau semata-mata dengan air untuk pertama kalinya dikembangkan untuk penentuan metionin secara simultan dan parasetamol dalam standar dan tablet Hepamol. Metode ini dilakukan pada kolom C₁₈ pada suhu 38°C, dan bergerak fase gerak yang terdiri dari gliserol dan buffer fosfat (pH 2,4) (40:60, v / v), menggunakan detektor *array dioda* pada 210 nm. Koefisien determinasi (r^2) ditentukan untuk MET dan PC dan ditemukan sama dengan 0,999. Waktu retensi berkisar antara 2,5 menit dan 5 menit dan resolusi memiliki nilai 7,28. karya ini membuka jalan baru bagi para ilmuwan untuk menggunakan gliserol dalam Aplikasi RP-HPLC yang lebih ramah lingkungan (Habib *et al.*, 2023).

Berdasarkan hasil penelitian Novia *et al.* (2023) terlihat bahwa panjang gelombang maksimum yang diukur adalah 248 nm. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum menunjukkan bahwa serapan parasetamol berada dalam rentang UV, karena panjang gelombang parasetamol berada antara 200-400 nm. Koefisien korelasi (r) dalam penelitian ini adalah sebesar 0,9563, yang berasal dari akar kuadrat dari 0,9147 atau nilai r^2 . Hal ini sesuai dengan persyaratan analisis pengukuran. Ini menunjukkan bahwa kenaikan konsentrasi sampel berkorelasi dengan peningkatan luas area baku yang diperoleh. Hasil penentuan konsentrasi zat aktif dalam sirup parasetamol 1 adalah sebesar 93,07%, sedangkan dalam sampel sirup parasetamol 2 mencapai 95,52%. Rata-rata konsentrasi dari kedua sampel tersebut adalah sekitar 94,29%. Dari nilai rata-rata tersebut, dapat disimpulkan bahwa sirup Unicetamol memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia Edisi VI (2020) yang menetapkan kandungan parasetamol harus berada dalam rentang tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110%.

Hasil penelitian Sarmeno *et al.* (2020) menunjukkan bahwa metode analisis divalidasi oleh sejumlah parameter. Parameter-parameter ini termasuk linearitas, akurasi, presisi, batas kuantifikasi (LOQ) dan batas deteksi (LOD). Pada sampel parasetamol, data AUC dan konsentrasi seri dapat digunakan untuk menentukan linieritas. Berdasarkan data, kurva baku larutan seri parasetamol memiliki nilai R² sebesar 0,9976, dengan persamaan regresi $y = 20,857x - 12575$. Akibat jumlah parasetamol yang terdeteksi dalam sampel melebihi batas deteksi, larutan sampel memiliki konsentrasi parasetamol 998,226 ng/10 μ L. Namun, parasetamol tidak dapat diukur secara kuantitatif. Larutan uji parasetamol

memiliki persentase deviasi relatif standar (RSD) 0,4437%. Untuk validasi parameter presisi, metode ini dianggap valid untuk presisi karena nilai RSD larutan uji paracetamol di bawah 2%. Untuk validasi presisi, rata-rata persen pemulihan larutan uji paracetamol adalah 100,0176%, yang menunjukkan bahwa tingkat pemulihan metode adalah 95% hingga 105%. Hasil ini menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki tingkat akurasi yang positif selama proses validasi metode.

Dari hasil penelitian Devi *et al.* (2013) metode analisis yang diterapkan untuk mengukur kadar paracetamol dalam obat menunjukkan respons linier terhadap konsentrasi paracetamol dalam rentang 6,25 hingga 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dengan koefisien determinasi (r^2) mencapai 0,999. Pemulihan paracetamol berhasil dilakukan dalam rentang 98,8 hingga 102,0%, sementara nilai *Relative Standard Deviation* (RSD) di bawah 3% mencerminkan tingkat presisi yang tinggi. Uji t-test untuk presisi antar-hari menghasilkan nilai kurang dari 0,1%, mengonfirmasi tingkat presisi yang signifikan. Konsentrasi batas deteksi (LOD) dan konsentrasi batas kuantifikasi (LOQ) untuk paracetamol dalam metode ini berturut-turut tercatat sebesar 120 ng/mL dan 360 ng/mL. Analisis kandungan paracetamol pada dua jenis strip tablet dengan dosis masing-masing 250 mg dan 500 mg per tablet menunjukkan hasil pemulihan sebesar 99,56% dan 99,75%, dengan nilai RSD di bawah 2%. Waktu retensi diukur sekitar 3,6 menit. Metode CKKT fase terbalik yang telah dioptimalkan untuk paracetamol menunjukkan sifat yang linier, akurat, tepat, kuat, mudah, cepat, dan selektif.

Dari hasil penelitian Salman & Indriana (2020) dari temuan penelitian bahwa seluruh tablet dan larutan oral paracetamol, baik yang bermerk maupun generik yang diuji dengan menggunakan kolom shim pack VP-ODS (2,5 mm x 25 cm) dan larutan pelarut air-metanol (3:1) pada laju alir sekitar 1,5 ml/minit, memenuhi standar kadar yang ditetapkan oleh Farmakope Indonesia Edisi IV 1995, yaitu tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110,0% dari kadar yang tertera pada label. Evaluasi metode melibatkan uji validasi yang menghasilkan persentase perolehan kembali dengan *Relative Standard Deviation* (RSD) sebesar 1,81%, atau dengan kata lain, metode ini menunjukkan tingkat perolehan kembali dan akurasi sesuai dengan persyaratan. Dari hasil perhitungan, ditemukan bahwa *Limit of Detection* (LOD) sebesar 0,76 g/ml dan *Limit of Quantitation* (LOQ) sebesar 2,56 g/ml.

Dari hasil penelitian Dang *et al.* (2020) analisis RP-HPLC, diperoleh data yang cukup akurat, dengan nilai RSD kurang dari 2,0%, dan tingkat pemulihan berkisar antara 99,5% hingga 101,1%. Kurva kalibrasi menunjukkan hubungan linier yang sangat baik, dengan nilai R^2 lebih dari 0,990, pada rentang konsentrasi PA (20-40 mg/L), IB (12-32 mg/L), dan CA (1-3,5 mg/L). Evaluasi terhadap presisi (dengan nilai RSD <2%) dan akurasi (dengan pemulihan persentase antara 99,1% hingga 101,5%) juga menunjukkan hasil yang memuaskan untuk semua metode spektrofotometri.

Dari hasil penelitian Ohriac *et al.* (2020) panjang gelombang deteksi paracetamol telah ditetapkan pada 245 nm, dengan menggunakan kromatogram larutan standar sebagai referensi. Metode ini menunjukkan dua tingkat linieritas, yaitu 0,02 - 12,75 $\mu\text{g} / \text{mL}$ dan 12,75 - 20 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Persamaan regresi linier untuk kedua tingkat tersebut disajikan dengan koefisien regresi yang tinggi ($r^2 > 0,99$). Hasil perhitungan menunjukkan bahwa batas deteksi adalah 0,66 $\mu\text{g} / \text{mL}$, sedangkan batas kuantifikasi adalah 2,00 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Perhitungan ini didasarkan pada estimasi standar deviasi dan kemiringan garis regresi. Untuk memperkirakan akurasi metode analisis, berbagai parameter statistik, termasuk koefisien regresi, kesalahan standar kurva regresi, dan parameter lainnya, telah dihitung. Parameter-parameter ini memberikan gambaran tentang sejauh mana metode analisis ini dapat diandalkan dan akurat dalam menentukan konsentrasi paracetamol dalam sampel (Arief, *et al.*, 2023).

KESIMPULAN

Pemisahan suatu zat senyawa, terutama paracetamol dalam sediaan obat dilakukan menggunakan metode HPLC (*High Perfomence Liquid Chromatography*). Penelitian ini dapat digunakan sebagai tahap awal untuk pengembangan uji obat tersebut dalam plasma manusia. Validasi adalah dilakukan sesuai dengan pedoman *International Conference on Harmonization* (ICH) yang hasilnya linier, akurat, tepat, spesifik dan kuat. Berdasarkan keunggulan dan hasil sebelumnya, metode HPLC yang dikembangkan dapat digunakan dengan tepat oleh kualitas laboratorium kendali mutu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Acheampong, A., et al. 2016. Validated RP-HPLC Method for Simultaneous Determination and Quantification of Chlorpheniramine Maleate, Paracetamol and Caffeine in Tablet Formulation. *Springerplus* 5 (1); 1-8.
2. Aminu, N., Chan, S. Y., Khan, N. H., Farhan, A. B., Umar, M. N., & Toh, S. M. 2019. A Simple Stability-Indicating HPLC Method for Simultaneous Analysis of Paracetamol and Caffeine and Its Application to Determinations in Fixed-Dose Combination Tablet Dosage Form. *Acta Chromatographica* 31 (2): 85-91.
3. Ardiyanti, Y. 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(3).
4. Arief, M., D, S. P. & S, G., 2023. Simultaneous Determination of Paracetamol and Caffeine by RP-HPLC in Soft Gelatin Capsules. *International Journal of Science and Research Archive* 9 (2): 950–957.
5. Assali, M., et al. 2020. RP-HPLC Method Development and Validation of Synthesized Codrug In Combination with Indomethacin, Paracetamol, And Famotidine. *International Journal of Analytical Chemistry*.
6. Charde M.S., Welankiwar, A. S., & Jitendra, K. 2014. Methode Developmen by Liquid Chromatography with Validation, *International Jurnal of Pharmaceutical Chemistry* 4(2): 57 – 61.
7. Dang, V. H., et al. 2020. RP-HPLC and UV Spectrophotometric Analysis of Paracetamol, Ibuprofen, and Caffeine in Solid Pharmaceutical Dosage Forms by Derivative, Fourier, and Wavelet Transforms: A Comparison Study. *Hindawi Journal of Analytical Methods in Chemistry*: <https://doi.org/10.1155/2020/8107571>.
8. Devi, T. A. P., et al. 2013. Method Development and Validation of Paracetamol Drug by RP-HPLC. *Journal of Medical & Al lied Sciences* 3 (1): 08-14.
9. Dewani, A. P., et al. 2014. RP-HPLC-DAD method for the determination of phenylephrine, paracetamol, caffeine and chlorpheniramine in bulk and marketed formulation. *Arabian journal of chemistry*, 7(5), 811-816.
10. Dong, N. T., et al. 2023. Simultaneous Determination of Paracetamol and Diclofenac in Wastewater by High-Performance Liquid Chromatography Method. *Vietnam Journal of Science and Technology*, 599-608.
11. Encarno, T., Aguiar, A., Palito, C., Pais, A.A.C.C, Campos, M. G., Sobral, A.J.F.N., & Burrows, H. D. 2020. Development and Validation of A RP-HPLC Method for The Simultaneous Analysis of Paracetamol, Ibuprofen, Olanzapine, and Simvastatin During Microalgae Bioremediation. *MethodX* 7 (101083): 1-12.
12. Fernandes, T. A. P., Aguiar, J. P., Fernandes, A. I., & Pinto, J. F. 2017. Quantification of Theophylline or Paracetamol in Milk Matrices by High-Perfomance Liquid Chromatography. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 7: 401-405.
13. Habib, A., et al. 2023. Glycerol Based Green RP HPLC Method for Simultaneous Determination of Methionine and Paracetamol in Pharmaceutical Tablets. *Chromatographia* 86: 707–716.
14. Harmita. 2015. Analisis Fisiko Kimia. Depok. Departemen Farmasi FMIPA UI.
15. Kemenkes RI. 2020. *Farmakope Indonesia Edisi VI*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
16. Khusnu, E., & Andrianto, D. 2021. Penentuan Kadar Parasetamol, Amonium Klorida, dan Batas Ketidakmurnian 4-Aminofenol Dalam Obat Sirup Flu Dan Batuk. *Jurnal Sosial Sains* 1 (1).
17. Kumari, P., et al. 2017. Simultaneous Determination of Paracetamol, Aceclofenac and Chlorzoxazone in Pharmaceutical Dosage Form by UHPLC Method. *Journal of Chromatography & Separation Techniques* 8(5).
18. Novia, L. R., Akhmad, A., & Abdul, B. 2023. Penetapan Kadar Parasetamol Pada Sediaan Sirup Obat Dengan Menggunakan Metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). *Jurnal Farmasi, Kesehatan dan Farmasi* 1 (1).
19. Ohriac, V., et al. 2020. The Determination of Paracetamol by HPLC Validation of theMethod and Application on Serum Samples. *Revista de Chimie* 69 (3).
20. Pereira, F. J. et al., 2021. Development and Validation of an RP-HPLC-PDA Method for Determination of Paracetamol, Caffeine and Tramadol Hydrochloride in Pharmaceutical Formulations. *Pharmaceuticals*.
21. Pratama, M., Harisman, D., Labasy, L., Seniwati, & Fawwaz, M. 2022. Determination of Acetaminophen in Jamu Pegal Linu High Perfomance Liquid Chromatography. *Pharmaceutical Reports* 1 (1): 12-15.

22. Rahmawati, N. L., Al-Bari, A., & Basith, A. Penggunaan Metode HPLC (High Performance Liquid Chromatography) Dalam Penentuan Konsentrasi Paracetamol dalam Sirup Obat. *Jurnal Farmasi, Kesehatan, dan Sains* 1 (1).
23. Rosalina, V. 2018. Analisis Kadar Sediaan Paracetamol Syrup Pada Anak Terhadap Lama Penyimpanan Dan Suhu Penyimpanan. *Jurnal Kesehatan* 5 (1).
24. Salman, & Indriana, M. 2020. Determination of Paracetamol Levels in Tablets and Oral Solutions By High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Journal of Pharmaceutical and Sciences* 3(2): 106-113. ISSN: 2656-3088.
25. Sarmento, Z. L. C., et al. 2020. Penetapan Kadar Paracetamol Dan Kafein Dengan Metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Journal of Applied Chemistry* 8 (2). ISSN 2302-7274.
26. Sayuthi, I. M., & Kurniawati, P. 2017. Validasi Metode Analisis dan Penetapan Kadar Paracetamol dalam Sediaan Tablet Secara Spektroskopi UV-Visible. Prosiding Nasional Kimia FMIPA UNESA: Surabaya.
27. Setyaningrum, L., Hidayati, S., Anggitasari, W., Purwanti, A., Mayasari, S., & Usman, M. R. 2022. Validasi Metode Analisis Penetapan Kadar Paracetamol dan Kafein Dalam Sediaan Tablet Secara Simultan Menggunakan RP-HPLC. *Jurnal Katalisator* 7 (2): 323-335.
28. Sharma, H., et al. 2016. Validated RP-HPLC Method for Simultaneous Estimation of Paracetamol, Pamabrom and Dicyclomine, Hydrochloride in Bulk and Pharmaceutical Dosage Form. *Int J Pharm Sci Res* 7(1): 316-24.
29. Tulandi, G. P., Sudewi, S., Lolo, W. S. 2015. Validasi Metode Analisis Untuk Penetapan Kadar Paracetamol dalam Sediaan Tablet Secara Spektrofotometri Ultraviolet, *Pharmacon* 4: 169-17.
30. Ulfa, D. M., Riski, N., & Irwandi, D. 2019. Assay of Paracetamol Syrup In Different Storage Temperatures By High Performance Liquid Chromatography. *Sanitas: Jurnal Tekologi Dan Seni Kesehatan* 10 (1): 72-80.
31. Youssef, S. H., Mohamed, D., Hegazy, M. A. M., & Badawey, A. 2019. Analytical Methods for The Determination of Paracetamol, Pseudoephedrine and Brompheniramine in Comtrex Tablets. *BMC Chemistry* 13 (78): 1-15.
32. Yuliantini, A., Rika R., & Endhayani O. 2017. Penetapan Kadar Deksametason dan Deksklorfeniramin Maleat Secara Simultan Pada Sediaan Sirup Menggunakan Metode KCKT. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada* 7(2).
33. Zulkarnain, I. 2014. Stabilitas Kimia Dan Usia Simpan Sirup Paracetamol Pada Berbagai Suhu Penyimpanan. *As-Syifaa Jurnal Farmasi* 6(1): 17–24.