

## VALIDASI METODE ANALISIS PENETAPAN KADAR PARASETAMOL DAN KAFEIN DALAM SEDIAAN TABLET SECARA SIMULTAN MENGGUNAKAN RP-HPLC

Lindawati Setyaningrum\*, Sholihati Hidayati, Wima Anggitasari, Aliyah Purwanti, Shinta Mayasari, Mohammad Rofik Usman

Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas dr. Soebandi, Jalan dr. Soebandi No. 99 Patrang Jember Jawa timur Indonesia

\*Email: [linda.w.setyaningrum@uds.ac.id](mailto:linda.w.setyaningrum@uds.ac.id)

### Detail Artikel

Diterima : 30 September 2022  
Direvisi : 29 Oktober 2022  
Diterbitkan : 31 Oktober 2022

### Kata Kunci

HPLC  
Kafein  
parasetamol  
Penetapan kadar  
Validasi metode

### Penulis Korespondensi

Name : Lindawati Setyaningrum  
Affiliation : Universitas dr. Soebandi  
E-mail : [linda.w.setyaningrum@uds.ac.id](mailto:linda.w.setyaningrum@uds.ac.id)

### ABSTRACT

*Pain is an unpleasant condition originating a certain area, caused by tissue damage and related to the experience of the person concerned. To treat pain, it is conducted by consuming painkillers (analgesic), it is carried out using HPLC-RP which is suitable for analytes of more than one in sample so that a selective and accurate separation is produced. Determination of the method was carried out were 200 ppm and 20 ppm then measured under HPLC conditions with isocratic elution and porosshell column 120 EC C-18, 4,6x150mm, the mobile phase used methanol: water ratio 30: 70, PDA detector wavelength 275 nm, flow rate 1 mL/min. method validation was carried out to obtain selectivity parameters with match factor = 990, caffeine linearity  $r = 0,996$  and  $Vx0 = 0,70628\%$ , LOD and LOQ of paracetamol were 4,7737 ppm*

*respectively. LOD and LOQ of caffeine respectively 4,7908 ppm and 15,9694 ppm. % Recovery of caffeine and paracetamol in the range of 98,41%-101,371%. Precision of caffeine % RSD is 0,399% and paracetamol % RSD is 0,656%. The validation results hav met the requirements of the parameters, so it can be applied in determining the of paracetamol and caffeine respectively are 102,83% and 98,82%.*

## ABSTRAK

Nyeri merupakan kondisi yang tidak menyenangkan yang berasal dari daerah tertentu, yang disebabkan oleh kerusakan jaringan dan terkait dengan pengalaman masa lalu orang yang bersangkutan. Untuk mengatasi nyeri biasanya dilakukan dengan mengkonsumsi parasetamol dan kafein. Untuk menguji kadar kombinasi obat tersebut dilakukan dengan menggunakan RP-HPLC yang cocok untuk analit lebih dari 1 dalam sampel sehingga dihasilkan pemisahan yang selektif dan akurat. Penentuan metode dilakukan dengan konsentrasi masing-masing parasetamol dan kafein adalah 200 ppm dan 20 ppm kemudian diukur pada kondisi HPLC dengan elusi isokratik dan kolom poroshell 120 EC C-18, 4,6x150mm, fase gerak yang digunakan metanol:air perbandingan 30:70, menggunakan detektor PDA, Panjang gelombang 275 nm, kecepatan alir 1 mL/menit. Validasi metode dilakukan untuk memenuhi parameter selektivitas dengan match factor = 990, linieritas kafein  $r = 0,996$  dan  $V_{xo} = 0,68209$  %, linieritas parasetamol  $r = 0,998$  dan  $V_{xo} = 0,70628$ %, LOD dan LOQ parasetamol masing-masing 4,7737 ppm dan 15,9125 ppm. LOD dan LOQ kafein masing-masing LOD = 4,7908 ppm dan LOQ = 15,9694 ppm, % recovery kafein dan parasetamol pada rentang 98,41%-101,371%, presisi kafein % RSD yaitu 0,399% dan parasetamol % RSD yaitu 0,656%, Hasil validasi telah memenuhi persyaratan parameter validasi sehingga mampu diaplikasikan dalam menetapkan kadar masing-masing diperoleh untuk parasetamol dan kafein adalah 102,83% dan 98,82%.

## PENDAHULUAN

Rasa sakit yang terjadi dengan ditandai rasa tertekan yang terjadi terus-menerus sehingga membutuhkan perawatan medis merupakan suatu alasan yang lazim dilakukan ketika seseorang mengalami rasa yang disebut nyeri (Pinandita et al., 2012). Menurut Dewi et al. (2016) penyebab kejadian nyeri diantaranya adanya pengalaman masa lalu yang diakibatkan oleh kerusakan suatu jaringan. Selain itu kondisi yang tidak menyenangkan ini berasal dari daerah tertentu dalam tubuh (Yarnitsky, 2022). Proses mekanisme terjadinya nyeri diantaranya yaitu nosisepsi, sensitisasi perifer, perubahan fenotip, sensitisasi sentral, eksitabilitas ektopik, reorganisasi struktural, dan penurunan inhibisi. Antara stimulus cedera jaringan dan pengalaman subjektif nyeri terdapat empat proses tersendiri: transduksi, transmisi, modulasi, dan persepsi (Bahrudin, 2017).

Sensasi nyeri yang terjadi mendorong individu yang bersangkutan untuk mencari pengobatan, antara lain dengan mengkonsumsi obat-obatan penghilang rasa nyeri (analgetik). Obat-obat analgetika adalah kelompok obat yang memiliki aktivitas menekan atau mengurangi rasa nyeri. Parasetamol memiliki mekanisme kerja sebagai analgesik dan antipiretik yang merupakan pilihan pertama untuk golongan NSID (Benista & Nowak, 2014). Salah satu diantaranya yang memiliki aktivitas analgetik dan antipiretik yang beredar di pasaran adalah kombinasi antara parasetamol dan kafein sebagai pereda sakit kepala. Parasetamol merupakan golongan NSIDs yang digunakan untuk penurunan panas dan

rasa nyeri, sedangkan kafein sebagai stimulant saraf pusat mendukung mekanisme kerja dari parasetamol dalam meningkatkan efek analgetiknya (Tjay, 2015). Kedua obat tersebut beredar dipasaran dalam bentuk tablet yang telah diketahui komposisi jumlah kadarnya.

Untuk menguji kadar kombinasi obat tersebut dilakukan beberapa pengembangan metode analisis untuk mengetahui bahwa kadar yang terkandung telah memenuhi persyaratan yang ditetapkan oleh BPOM. Obat yang dikonsumsi akan menimbulkan efek terapi jika sesuai dengan kadar yang diharapkan. Apabila kadar suatu obat dalam sediaan lebih tinggi dari persyaratan maka dapat menyebabkan efek toksik dalam tubuh, sebaliknya jika kadar obat lebih rendah maka efek yang diharapkan tidak akan tercapai.

Metode analisis untuk kombinasi kadar parasetamol dan kafein banyak dikembangkan sebagai pendukung dalam analisis rutin pada sampel yang beredar dipasaran. Metode tersebut diantaranya adalah spektrofotometri dengan dua panjang gelombang dengan regresi berganda melalui perhitungan operasi matriks (Sari & Kuntari, 2019). Namun dari penggunaan spektrofotometri UV-Vis ini membutuhkan analisis hasil data dan preparasi sampel yang rumit dan waktu yang cukup lama pada analisis dengan dua analit atau lebih.

Pada penelitian sebelumnya oleh Sarmiento et al. (2020) yang telah dipublikasikan bahwa analisis penentuan kadar parasetamol dan kafein secara simultan menggunakan KCKT dengan kondisi analisis menggunakan kolom *reversed phase* C18 dengan ukuran 4.6 mm x 10 cm. Temperatur kolom  $45 \pm 1^\circ\text{C}$  dan fase gerak berupa metanol : asam asetat glasial : aquadest (28:3:69) dengan kecepatan 2 mL/menit dengan detector UV 275 nm, selain itu juga pada penelitian lain menyebutkan penggunaan HPLC dengan kolom C18 dengan fase gerak air dan metanol (50:50) pada panjang gelombang 273 nm dan laju alir 0,6 ml/menit, waktu retensi yang dihasilkan sekitar 5-6 menit telah dilakukan (Yulyarti et al., 2018). Penelitian HPLC diatas cukup baik untuk digunakan sebagai analisis dalam pemisahan analit secara simultan namun hasil dari penelitian diatas memiliki kelemahan yaitu analisis yang cukup lama terlihat dari waktu retensi yang dihasilkan, selain itu penggunaan reagen pada fase gerak yang rumit dan mudah merusak kolom C-18 serta hasil deteksi yang masih kurang efektif yaitu pada kadar yang cukup besar.

Pengembangan metode analisis menggunakan HPLC untuk pemisahan parasetamol dan kafein secara simultan untuk mengetahui kadar dari kombinasi dalam obat tersebut dengan melakukan optimasi kondisi analisis (meliputi panjang gelombang, konsentrasi, fase gerak) untuk memperoleh hasil kondisi yang memenuhi persyaratan validasi metode analisis. Analisis HPLC mampu menghasilkan pemisahan yang sederhana, penggunaan reagen yang murah dan aman serta waktu analisis yang cukup singkat sehingga metode ini mampu digunakan sebagai analisis rutin di suatu pengujian. Pengujian dan pemeriksaan dilakukan untuk mendapatkan bukti bahwa hasil konfirmasi dinyatakan valid. Validasi metode harus dilakukan pada metode baru yang dikembangkan dalam skala laboratorium maupun metode yang non standar, ataupun terhadap metode yang akan digunakan sangat penting dilakukan untuk menjamin keabsahan hasil analisis (Riyanto & Hermana, 2014).

## METODE PENELITIAN

### Alat dan bahan:

Standar parasetamol dan kafein, Sampel tablet (Bodrex<sup>®</sup>) yang mengandung parasetamol dan kafein, Metanol pa, Metanol pro HPLC, Aquabidestilata steril, alat gelas, Microsyringe 20 µl, HPLC *solven filtration* + pompa vakum, membran filter nilon 0,45 µm, Instrumen HPLC merk *agilent*, kolom *poroshell*120 EC C-18, 4,6x150mm.

### Prosedur kerja :

Pembuatan eluen untuk HPLC dan Pembuatan pelarut untuk sampel dan standar dilakukan dengan membuat sistem dengan eluen metanol dan air yang disaring dengan *solven filtration* HPLC menggunakan membran filter nilon 0,45 µm. Sistem HPLC diatur dengan metode metanol : air = 30 : 70 % v/v dengan membuat campuran larutan metanol sebanyak 300 ml dan 700 ml ke dalam 1 liter labu (Yulyarti et al., 2018).

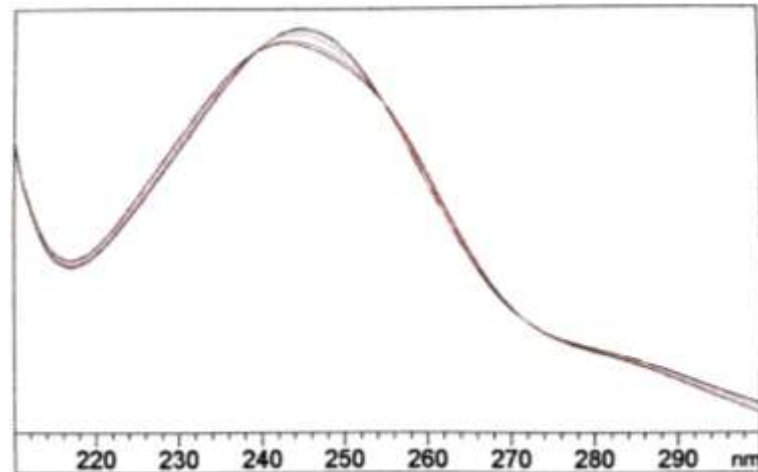
Selanjutnya pembuatan larutan baku induk campuran (parasetamol = 1000 ppm, kafein = 100 ppm) sebanyak 10 mg kafein dalam pelarut sampai 20 mL, kemudian diambil 4 ml dilarutkan dalam pelarut pada labu ukur 20 mL (100 ppm). Parasetamol ditimbang 25 mg dalam labu ukur 25 mL (1000 ppm), kemudian dipipet masing-masing 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 mL larutan baku induk campuran, dan dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL. Masing-masing larutan baku disaring dengan membran filter 0,2 µm.

Preparasi sampel dilakukan dengan menimbang 10 sampel tablet secara seksama, ditentukan rata-rata dan RSD-nya. Selanjutnya tablet digerus dan ditimbang secara seksama sejumlah tertentu sehingga mengandung parasetamol 50 mg dan kafein 5 mg (replikasi 3x). Keduanya ditambahkan pelarut ± 10 mL masukkan dalam labu ukur 25 mL dan disonikasi selama 10 menit. Setelah dingin tambahkan pelarut sampai tanda. Pengenceran dilakukan dengan mengambil 1,0 mL larutan sampel dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan pelarut sampai tanda. Sebelum dianalisis, sampel disaring dengan membran filter 0,2 µm.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

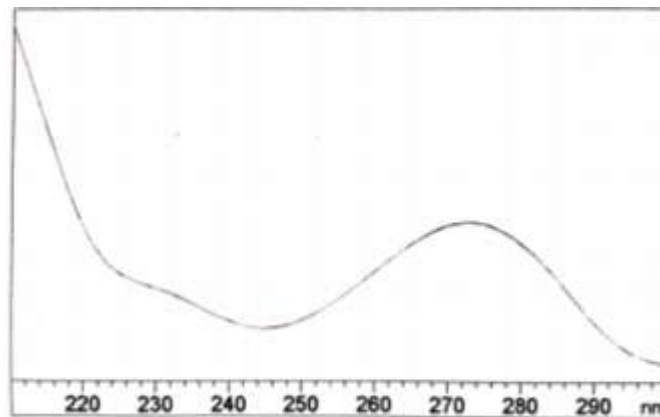
### Penentuan panjang gelombang

Pada penentuan panjang gelombang dilakukan terhadap masing-masing zat menggunakan HPLC dengan detektor PDA. Standar parasetamol dan kafein masing-masing dengan konsentrasi 200 ppm dan 20 ppm dibuat dan diukur pada panjang gelombang 200 – 400 nm. Hasil pengukuran panjang gelombang menggunakan HPLC berupa spektrum. Untuk spektrum panjang gelombang parasetamol pada gambar 1.



**Gambar 1. Spektrum serapan parasetamol**

*Scanning* panjang gelombang parasetamol yang dilakukan menunjukkan panjang gelombang maksimum parasetamol berada sekitar 245 nm. Pada *scanning* panjang gelombang 200 – 400 nm, parasetamol menghasilkan puncak dan lembah pada panjang gelombang tertentu. Sedangkan spektrum serapan kafein dapat dilihat pada gambar 2.



**Gambar 2. Spektrum serapan kafein**

Dari spektrum kafein di atas, kafein memberikan serapan pada panjang gelombang antara 250,0 nm dan 300,0 nm. Pada *scanning* panjang gelombang 200 – 400 nm, kafein menghasilkan puncak dan lembah pada panjang gelombang tertentu. Berdasarkan gambar di atas, kafein dengan konsentrasi 20 ppm memiliki panjang gelombang maksimum pada 275 nm. Dari hasil penentuan panjang gelombang maksimum tersebut dipilih panjang gelombang 275 nm sebagai penetapan kondisi optimum. Parasetamol dan kafein merupakan zat yang memiliki ciri khas pada strukturnya berupa gugus kromofor. Ciri yang dimiliki kedua zat tersebut menunjukkan bahwa parasetamol dan kafein dapat diukur pada kisaran sinar ultraviolet dengan panjang gelombang 200 – 400 nm (Sari & Kuntari, 2019).

### Penentuan Konsentrasi Optimum

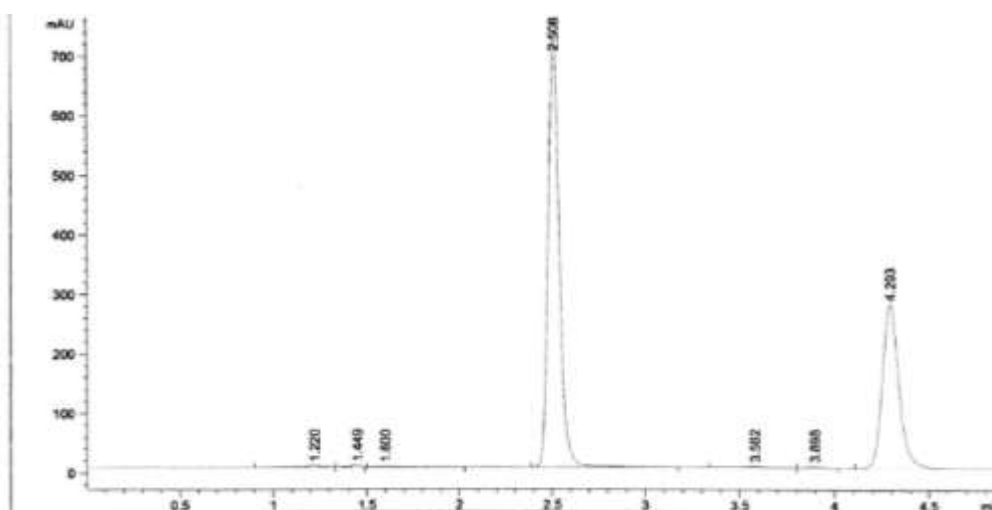
Penentuan konsentrasi parasetamol ditentukan pada rentang 100,0 ppm, 200,0 ppm, 300,0 ppm, 400,0 ppm, 500,0 ppm, kemudian dianalisis dengan HPLC dan ditentukan konsentrasi optimumnya. Selanjutnya memipet sampel sejumlah tertentu dilarutkan dengan pelarut sampai didapat konsentrasi kafein 10,0 ppm, 20,0 ppm, 30,0 ppm, 40,0 ppm, 50,0 ppm kemudian dianalisis dengan HPLC dan ditentukan konsentrasi optimumnya.

Dari hasil diatas konsentrasi uji paling optimum adalah sampel 2 yaitu dengan konsentrasi parasetamol 198,568 ppm dan kafein 16,544 ppm yang mampu menghasilkan persen rekoverti mendekati 100% (AOAC, 2019).

### Penentuan Kondisi Analisis

Sebagai langkah awal, pengujian ini dilakukan dengan menginjeksikan standar parasetamol dan kafein secara individu dengan konsentrasi masing-masing 200 ppm dan 20 ppm. Volume penyuntikan pada sistem HPLC sebanyak 20 µl. Sistem elusi yang digunakan adalah isokratik, dimana yang dimaksud isokratik adalah sistem elusi dengan komposisi fase gerak tetap selama analisis, berbeda elusi gradient yang membutuhkan pengoperasian yang lebih kompleks sehingga rumit dalam pelaksanaannya (Aulia et al., 2016). Berdasarkan hasil optimasi yang dilakukan, diperoleh kondisi optimum untuk pengujian campuran parasetamol dan kafein adalah fase diam adalah kolom poroshell 120 EC C-18, 4,6x150mm, fase gerak yang digunakan metanol:air perbandingan 30:70, menggunakan detektor PDA, Panjang gelombang 275 nm, dengan kecepatan alir 1 mL/menit.

Tujuan penyuntikan standar parasetamol dan kafein pada kondisi analisis pertama di sistem HPLC adalah untuk mengetahui waktu retensi masing-masing zat tersebut. Dimana masing-masing retensi dari standar parasetamol dan kafein menunjukkan pemisahan yang sangat baik (Martono & Martono, 2013).



Gambar 3. Waktu retensi dari standar parasetamol dan kafein

### Uji Kesesuaian Sistem

Pengujian ini dilakukan pada metode terpilih dalam optimasi kondisi optimum dengan replikasi injeksi sebanyak 5 kali penyuntikan. Konsentrasi larutan standar parasetamol dan kafein berturut-turut sebesar 200 ppm dan 20 ppm. Pada uji kesesuaian sistem terdapat beberapa parameter yang harus dipenuhi, diantaranya nilai lempeng teoritis (N), *tailing factor* (Tf), faktor kapasitas (k), dan nilai simpangan baku relatif (% RSD) luas area dari 5 kali penyuntikan. Standar parasetamol dan kafein disuntikkan pada sistem HPLC dan data yang diperoleh dari hasil penyuntikkan tersebut diolah menggunakan *software* yang terhubung dengan sistem HPLC (Yulyarti et al., 2018).

Hasil uji kesesuaian system ditunjukkan dari pengulangan waktu retensi dan area kemudian ditentukan nilai RSD < 2 %. Waktu retensi menghasilkan nilai RSD 0,196% dan area menghasilkan nilai RSD 1,562%. Hasil tersebut memenuhi persyaratan nilai RSD yaitu RSD < 2 %, RSD 0,285% untuk keterulangan waktu retensi dan RSD 1,564% untuk keterulangan area.

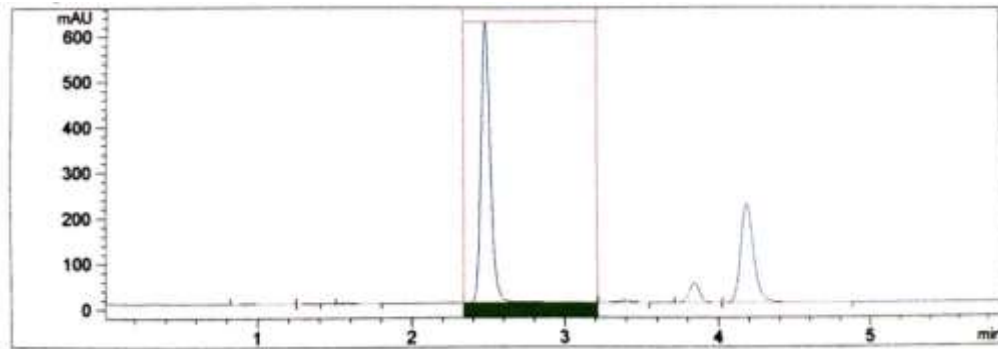
### Selektivitas

Uji selektivitas dilakukan dengan menyuntikkan blanko, campuran larutan baku, larutan spike sampel, sampel tanpa spike dan Larutan spike baku tanpa analit.

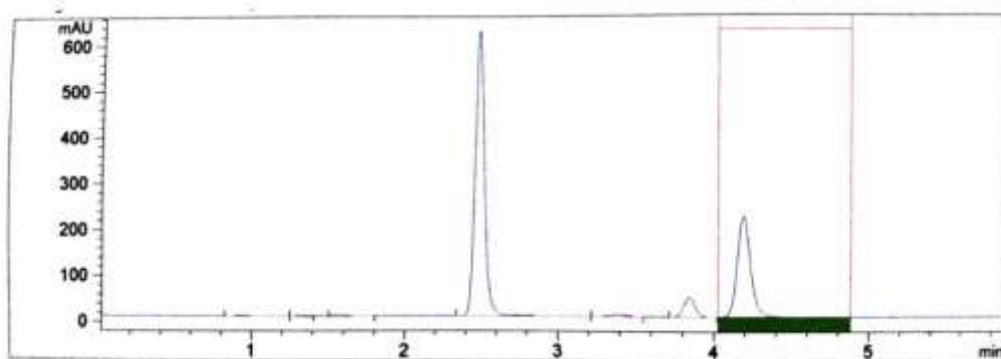
**Tabel 1. Hasil uji selektivitas**

Jenis larutan	Waktu retensi (menit)	Resolusi > 2	N > 2000	Symmetry
Blanko	-	-	-	-
Campuran larutan baku	parasetamol: 2,502 Kafein: 4,265	5,99	2562	1,04
Larutan spike sampel	parasetamol: 2,495 Kafein: 4,277	4,05	2346	0,97
Sampel tanpa spike baku	parasetamol: 2,511 Kafein: 4,235	4,92	2304	0,93
Larutan spike baku Lain selain analit	-	-	-	-

Pada uji selektivitas dilakukan uji kualitatif untuk menentukan identitas puncak menggunakan *software* PDA yaitu dengan membandingkan puncak analit parasetamol dan kafein pada larutan standar dan sampel.



Gambar 4. Hasil software PDA sampel yang mengandung parasetamol



Gambar 5. hasil software PDA sampel yang mengandung kafein

Kemudian dilakukan uji kemurnian puncak (*peak purity*) analit tersebut untuk mengetahui kemurnian puncaknya. Hasil analisis *peak purity* pada puncak analit tersebut menunjukkan puncak murni karena nilai *peak purity* yang didapat > 990 (USP, 36). Nilai *peak purity* ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisis *peak purity* analit parasetamol dan kafein pada sampel

Jenis Sampel	Nilai <i>peak purity</i> (> 990)
Tablet yang mengandung parasetamol	997,851
Tablet yang mengandung kafein	999,971

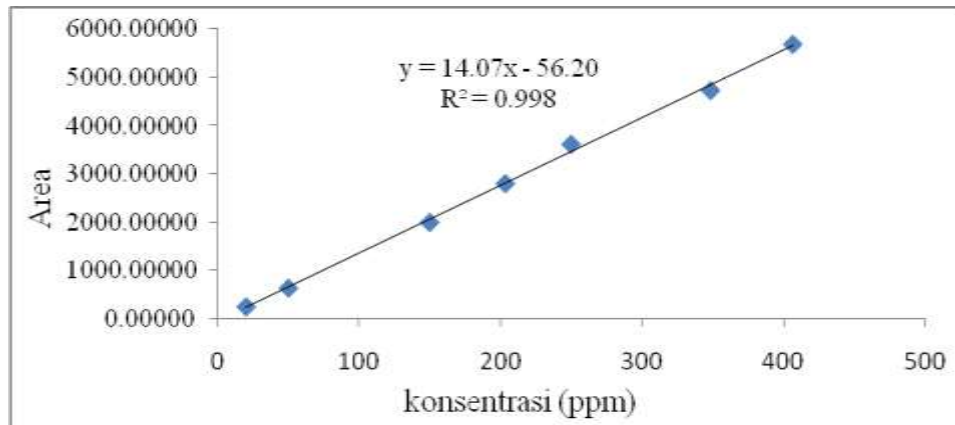
### Linieritas

Pada pengujian ini dibuat masing-masing larutan standar parasetamol dan kafein dalam pelarut dengan konsentrasi antara 10% sampai dengan 200% dari konsentrasi uji sebanyak sembilan (9) titik konsentrasi. Adapun 9 konsentrasi kafein yang dipakai berturut-turut adalah 33,86; 29,02; 26,00; 20,8; 12,48; 4,16; dan 1,664 ppm. Sedangkan untuk rentang seri

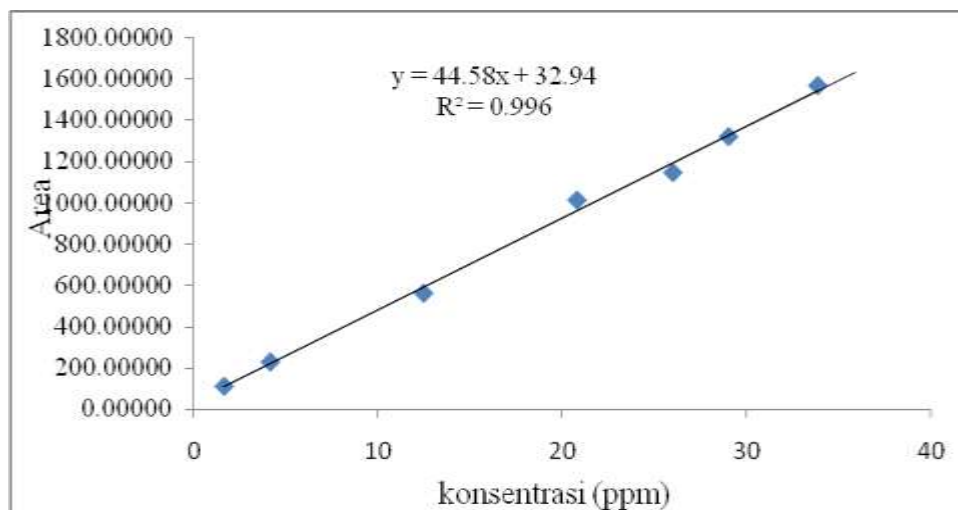


konsentrasi parasetamol adalah 406,27; 348,23; 249,564; 203,135; 149,7384; 49,9128; 19,96512 ppm.

Berdasarkan hasil yang didapat dari konsentrasi dengan respon detector standar kafein menghasilkan  $y = 44,58x + 32,94$  dengan nilai koefisien korelasi (R) adalah 0,996 dan didapat nilai  $V_{xo} = 0,68209 \%$ . Sedangkan persamaan regresi linier larutan standar parasetamol yaitu,  $y = 14,07x - 56,20$  dengan nilai koefisien korelasi (R) adalah 0,998 dan nilai koefisien korelasi  $V_{xo} = 0,70628\%$  (Taslim et al., 2020).



Gambar 6. Linieritas sampel parasetamol



Gambar 7. Linieritas sampel kafein

### Akurasi Pada Sampel kafein

Metode standar adisi dilakukan untuk penentuan akurasi yaitu menganalisis larutan sampel ditambah standar kafein dengan 3 konsentrasi yang berbeda. Masing-masing

konsentrasi direplikasi 3 kali. Kemudian diukur kadarnya dengan menggunakan persamaan kurva kalibrasi  $y = 992,6x - 9493$  dengan  $r = 0,998$ , hasil perhitungan ditunjukkan pada tabel 3.

**Tabel 3. Data uji akurasi pada sampel kafein**

Konsentrasi	Pengulangan	Kadar teoritis	Kadar yang diperoleh	% recovery	Rata-rata ± SD
80%	1	13,2 ppm	13,393 ppm	101,462%	101,371%
	2	13,2 ppm	13,377 ppm	101,341%	
	3	13,2 ppm	13,373 ppm	101,311%	
100%	1	16,5 ppm	16,207 ppm	98,224%	98,410%
	2	16,5 ppm	16,297 ppm	98,770%	
	3	16,5 ppm	16,209 ppm	98,236%	
120%	1	19,8 ppm	19,817 ppm	100,086%	99,468%
	2	19,8 ppm	19,557 ppm	98,773%	
	3	19,8 ppm	19,710 ppm	99,545%	

### Akurasi Pada Sampel Parasetamol

Metode standar adisi dilakukan untuk penentuan akurasi yaitu menganalisis larutan sampel ditambah standar parasetamol dengan 3 konsentrasi yang berbeda. Masing-masing konsentrasi direplikasi 3 kali. Kemudian diukur kadarnya dengan menggunakan persamaan kurva kalibrasi  $y = 10,68x + 2040$  dengan  $r = 0,999$ , hasil perhitungan ditunjukkan pada tabel 4.

**Tabel 4. Hasil uji akurasi pada sampel parasetamol**

Konsentrasi	Replikasi	Kadar teoritis	Kadar yang diperoleh	% Recovery	Rata-rata ± SD
80%	1	160 ppm	161,940 ppm	101,213%	99,292%
	2	160 ppm	160,039 ppm	100,024%	
	3	160 ppm	154,626 ppm	96,638%	
100%	1	200 ppm	199,216 ppm	99,608%	100,905%
	2	200 ppm	202,135 ppm	101,068%	
	3	200 ppm	204,077 ppm	102,039%	
120%	1	240 ppm	238,941 ppm	99,559%	99,523%
	2	240 ppm	237,798 ppm	99,083%	
	3	240 ppm	239,824 ppm	99,927%	

Persen recovery yang dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% Recovery = \frac{Cf - Cu}{Ca} \times 100\%$$

### Presisi

Uji presisi dilakukan dengan jenis *repeatability*. Penentuan keterulangandilakukan dengan menganalisis salah satu dari tiga konsentrasi pada akurasi dengan mereplikasi 5 kali. Metode standar adisi juga dilakukan pada uji presisi yaitu menganalisis masing-masing larutan sampel yang ditambah dengan standar kafein maupun parasetamol. Hasil uji *repeatability* ditunjukkan kafein melalui nilai % RSD yaitu 0,399%. Sedangkan hasil uji *repeatability* standar parasetamol mendapatkan nilai % RSD yaitu 0,656% (AOAC, 2019).

### LOD dan LOQ

Pada pengujian ini dibuat masing-masing larutan standar parasetamol dan kafein dalam pelarut dengan konsentrasi disekitar konsentrasi limit deteksi. Dapat dibuat dengan membuat 8 titik konsentrasi termasuk dengan konsentrasi dibawah konsentrasi linieritas.

Cara kerja penentuan nilai LOD dan LOQ adalah diambil 8 titik konsentrasi dari konsentrasi rentang yang sudah didapat yaitu sebesar 200 ppm yang kemudian dibuat seri konsentrasi 10-200 %. Untuk LOD dan LOQ titik tersebut diambil dari belakang maka 8 titik tersebut 150 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 20 ppm, 10 ppm, 5 ppm, 2,5 ppm, 0 ppm.

Untuk nilai LOD dan LOQ menggunakan metode kurva kalibrasi maka rumus menentukan LOD = 3xSy/slope untuk LOQ = 10 x Sy/b. Maka didapat nilai LOD untuk parasetamol 4,7737 ppm dan untuk nilai LOQ parasetamol 15,9125 ppm. Sedangkan untuk kafein masing -masing LOD = 4,7908 ppm dan LOQ = 15,9694 ppm.

### Penetapan Kadar Sampel yang mengandung parasetamoldan kafein

Hasil dari penetapan kadar tablet yang mengandung parasetamol dan kafein menunjukkan bahwa sesuai dengan rentang yang telah ditentukan di USP 29. Hasilnya adalah 10 tablet dilakukan penimbangan didapatkan kadar sampel setelah dianalisis dengan HPLC.

**Tabel 5. Persen rekoverti kadar sampel yang telah di analisis dengan HPLC**

Nama sampel	Berat sampel	% kadar	Rata – rata % kadar
parasetamol 1	50 mg/70,5 mg	103,38%	102,83%
parasetamol 2	50 mg/70,7 mg	102,25%	
parasetamol 3	50 mg/69,8 mg	102,87%	
kafein 1	5 mg/70,5 mg	102,23%	98,82%
kafein 2	5 mg/70,7 mg	95,73%	
kafein 3	5 mg/69,8 mg	98,45%	

Dari data diatas diperoleh hasil persen rekoveri kadar sampel yang memenuhi syarat monografi USP 29 yaitu masing-masing untuk parasetamol adalah 90-110% sedangkan untuk kafein 98-101%.

## SIMPULAN

Pengembangan metode HPLC untuk penetapan kadar parasetamol dan kafein dalam tablet menggunakan kolom poroshell 120 EC C-18, 4,6x150mm, metanol : air (30:70), laju alir 1 ml/menit, volume injeksi sampel 20 µl dan panjang gelombang analisis 275 nm, detektor PDA memenuhi persyaratan validasi metode yaitu uji kesesuaian sistem, selektivitas, linieritas, akurasi, presisi, batas deteksi, batas kuantitasi. Aplikasi kondisi HPLC untuk Penetapan Kadar parasetamol dan kafein dalam tablet diperoleh hasil persen rekoveri kadar sampel yang memenuhi syarat monografi USP 29 yaitu masing-masing untuk parasetamol adalah 90-110% sedangkan untuk kafein 98-101%.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih kepada disampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas dr. Soebandi yang telah memberikan dana dan mendukung dilaksanakannya penelitian ini dilaboratorium terpadu Universitas dr. Soebandi.

## DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. (2019). Association of Official Analytical Chemists Guidelines for Single-Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. In *Guidelines for Dietary Supplements and Botanicals*.
- Aulia, D. S., Aprilia, H., & Kodir, R. A. (2016). Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Bahan Kimia Obat Parasetamol dan Deksametason pada Jamu Pegal Linu yang Beredar di Perdagangan dengan Menggunakan Metode Ekstraksi Fase Padat-Kromatografi Cair Kinerja Tin.
- Bahrudin, M. (2017). Patofisiologi Nyeri (PAIN). *Jurnal Ilmu Kesehatan dan Kedokteran Keluarga*, 13(1), 7-13.
- Benista, M. J. è.-B., & Nowak, J. Z. (2014). Paracetamol: Mechanism Of Action, Applications And Safety Concern. *ACTA POLONIAE PHARMACEUTICA*, 71(1), 11-23.
- Dewi, A., Ahsan, & Misbahuddin, A. (2016). Pengaruh Budaya Keselamatan Pasien terhadap Sikap Melaporkan Insiden pada Perawat di Instalasi Rawat Inap Rumah Sakit Tk. II dr. Soepraoen. *Jurnal Aplikasi Manajemen*(Vol 14, No 2 (2016)), pp. 309-321.
- Martono, Y., & Martono, S. (2013). Analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi untuk Penetapan Kadar Asam Galat, Kafein dan Epigalokatekin Galat pada Beberapa Produk Teh Celup. *AGRITECH*, 32(4), 362-369.

- Pinandita, I., Purwanti, E., & Utoyo, B. (2012). Pengaruh Teknik Relaksasi Genggam Jari Terhadap Penurunan Intensitas Nyeri Pada Pasien Post Operasi Laparatomi. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Keperawatan*, 8(1), 32-43.
- Riyanto, R., & Hermana, I. (2014). Karakteristik Plastik Indikator sebagai Tanda Peringatan Dini Tingkat Kesegaran Ikan dalam Kemasan Plastik. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 9, 153.
- Sari, A. I. N., & Kuntari, K. (2019). Penentuan Kafein dan Parasetamol dalam Sediaan Obat Secara Simultan Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *IJCA (Indonesian Journal of Chemical Analysis)*, 2(01).
- Sarmiento, Z. L. C., Rangdi, O. S. G., Sena, B. M. C. D., & Dewi, K. N. M. (2020). Penetapan Kadar Parasetamol Dan Kafein Dengan Metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 8(2), 99-104.
- Taslim, T., Suryani, Fardani, S., & Salim, R. (2020). Analisis Kalium Pada Buah Semangka (*Citrullus Lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai) Dengan Spektrofotometer Serapan Atom. *Jurnal Katalisator*, 5(2), 137-145.
- Tjay, T. H. (2015). *Obat-obat Penting Edisi ketujuh*. PT Elex Media Komputindo. <https://books.google.co.id/books?id=gk5JDwAAQBAJ>
- Yarnitsky, D. (2022). Pain Report. 7(4). <https://www.iasp-pain.org/publications/pain-reports/>
- Yulyarti, E., Rifai, Y., & Yulianty, R. (2018). Penetapan Kadar Parasetamol, Kafein Dan Propifenazon Secara Simultan Dalam Sediaan Tablet Dengan Metode KCKT. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 22(1), 1-4.