

**VALIDASI METODE ANALISIS CAMPURAN PARASETAMOL DAN KAFEIN
SERTA APLIKASINYA DALAM SEDIAAN OBAT SECARA SIMULTAN
DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI DERIVATIF**

I P. G. A. Suandi, N. P. Diantariani*, dan I. A. G. Widihati

*Program Studi Magister Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Udayana, Denpasar, Indonesia*
**Email: putu_diantariani@unud.ac.id*

Article Received on: 11th November 2024

Revised on: 16th July 2025

Accepted on: 27th July 2025

ABSTRAK

Sediaan farmasi yang beredar di pasaran merupakan campuran zat berkasiat, salah satu campuran zat aktif yang sering digunakan adalah parasetamol dan kafein. Analisis multikomponen dalam tablet obat dapat dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri derivatif. Metode ini dapat menentukan kadar parasetamol dan kafein secara simultan dalam campuran tanpa pemisahan terlebih dahulu. Penelitian ini bertujuan untuk mevalidasi analisis campuran parasetamol dan kafein secara simultan dengan metode spektrofotometri derivatif serta aplikasinya terhadap sampel sediaan obat. Pada penelitian ini dilakukan optimasi pelarut menggunakan tiga jenis pelarut yaitu etanol 96%, metanol 15% dan campuran metanol kloroform dengan perbandingan 1:9. Hasil penelitian menunjukkan bahwa etanol 96% merupakan pelarut yang terbaik dalam analisis campuran parasetamol dan kafein dengan metode spektrofotometri derivatif. Panjang gelombang zero crossing untuk menentukan kadar parasetamol dalam campuran parasetamol dan kafein adalah 272 nm, sedangkan untuk panjang gelombang zero crossing kafein adalah 256 nm. Hasil validasi metode analisis campuran parasetamol dan kafein dengan metode spektrofotometri derivatif untuk uji linearitas, akurasi, presisi, LoD dan LoQ, memenuhi syarat ISO/IEC 17025. Hasil pengujian memberikan nilai koefisien korelasi linieritas 0,99927 untuk parasetamol dan 0,99933 untuk kafein. Uji akurasi memberikan rata-rata recovery 100,26 ± 1,01 untuk parasetamol dan 100,17 ± 1,39 untuk kafein. Uji presisi memberikan nilai %RSD < 2% untuk parasetamol dan kafein, sedangkan nilai LoD dan LoQ untuk parasetamol sebesar 1,946 ± 0,442 mg/L dan 6,486 ± 1,473 mg/L, untuk kafein sebesar 0,236 ± 0,043 mg/L dan 0,788 ± 0,144 mg/L. Analisis tiga sampel tablet obat yang mengandung campuran parasetamol dan kafein memberikan nilai persentase perolehan kembali 95,583 % - 100,306 % untuk parasetamol dan 92,1 % - 99,502 % untuk kafein.

Kata kunci: kafein, parasetamol, spektrofotometri derivatif, validasi metode

ABSTRACT

Pharmaceutical preparations on the market are a mixture of efficacious substances. One mixture of active substances that is often used is paracetamol and caffeine. Multicomponent analysis in drug tablets can be done using derivative spectrophotometric methods. This method can determine the levels of paracetamol and caffeine simultaneously in the mixture without prior separation. This study aims to validate the simultaneous analysis of paracetamol and caffeine mixtures in pharmaceutical preparations using the derivative spectrophotometry method. This study optimized solvents using three types of solvents, namely 96% ethanol, 15% methanol, and a mixture of methanol and chloroform in a 1:9 ratio. The results showed that 96% ethanol was the best solvent for analyzing paracetamol and caffeine mixtures using the derivative spectrophotometry method. The zero-crossing wavelength for determining paracetamol content in a mixture of paracetamol and caffeine is 272 nm, while for caffeine, the zero-crossing wavelength is 256 nm. The results of the validation of the method for analyzing paracetamol and caffeine mixtures using the derivative spectrophotometry method for linearity, accuracy, precision, LoD, and LoQ testing meet the requirements of ISO/IEC 17025. The test results yielded a linearity correlation coefficient of 0.99927 for paracetamol and 0.99933 for caffeine. The accuracy test yielded an average recovery of 100.26 ± 1.01 for paracetamol and 100.17 ± 1.39 for caffeine. The precision test yielded a %RSD < 2% for both paracetamol and caffeine, while the LoD and LoQ values for paracetamol were 1.946 ± 0.442 mg/L and 6.486 ± 1.473 mg/L, and for caffeine were 0.236 ± 0.043 mg/L and 0.788 ± 0.144 mg/L. Analysis of three samples of tablets containing a mixture of paracetamol and caffeine yielded recovery percentages of 95.583%–100.306% for paracetamol and 92.1%–99.502% for caffeine.

Keywords: caffeine, derivative spectrophotometric, paracetamol, method validation

PENDAHULUAN

Sediaan farmasi yang beredar di pasaran kebanyakan berupa campuran berbagai zat berkhasiat untuk meningkatkan efek terapi. Salah satu campuran zat aktif yang sering digunakan adalah parasetamol dan kafein yang berkhasiat sebagai analgesik dan antipiretik (Naid *et al.*, 2011). Untuk menjamin keamanan obat, salah satu kontrol kualitas yang dilakukan adalah penetapan kadar senyawa aktif yang ada dalam obat. Penetapan kadar multi senyawa dalam obat yang telah dilakukan oleh beberapa peneliti yaitu dengan metode spektrofotometri UV-Vis (Hanwar dkk, 2017; Ade & Kuntari, 2019). Penggunaan metode spektrofotometri persamaan simultan dalam penentuan kadar dua senyawa dalam obat yang dilakukan Hanwar dkk. (2017) yang menetapkan kadar asetosal dan dipiridamol secara simultan, terlebih dahulu dipelajari pengaruh pelarut terhadap selisih panjang gelombang maksimum dari asetosal dan dipiridamol. Semakin kecil selisih antara panjang gelombang maksimum kedua senyawa, semakin besar interferensi pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimumnya. Pada penelitian yang dilakukan Ade dan Kuntari (2019) juga menggunakan spektrofotometri persamaan simultan untuk penetapan kadar dua senyawa dalam tablet yaitu untuk senyawa kafein dan parasetamol. Dalam penelitian tersebut kadar parasetamol dan kafein dalam tablet belum memenuhi standar sesuai Farmakope Indonesia Edisi IV Tahun 1995 yaitu tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 110% dari yang tertera pada kemasan. Ketidaksesuaiannya hasil yang diperoleh kemungkinan dapat disebabkan oleh kandungan parasetamol dan kafein dalam tablet yang memang belum memenuhi standar atau bisa juga disebabkan karena metode yang belum divalidasi. Hasil yang tidak sesuai juga dapat disebabkan karena pelarut yang digunakan tidak melarutkan secara sempurna sediaan senyawa aktif dalam sampel.

Dari hasil penelitian Hanwar dkk (2017), Ade dan Kuntari (2019), hasil penentuan kadar dua senyawa dalam tablet belum cukup valid. Hal ini kemungkinan disebabkan karena metode spektrofotometri UV-Vis persamaan simultan, perhitungan konsentrasi dilakukan dari spektra normal. Kekurangan utama perhitungan konsentrasi yang dihitung dari absorbansi spektra normalnya adalah tingkat selektivitasnya yang rendah, karena adanya interferensi dari komponen

lain yang ada dalam sampel. Interferensi ini menyebabkan kenaikan nilai absorbansi dari suatu komponen akibat adanya tumpang tindih spektra. Sebuah metode alternatif telah ditemukan untuk mengatasi masalah tersebut yaitu melalui pendekatan manipulasi sinyal yang dibaca detektor. Metode ini dikenal dengan metode spektrofotometri derivatif (Karpinska, 2004).

Spektrofotometri derivatif merupakan metode manipulatif terhadap spektra pada spektrofotometri UV-Vis. Pada spektrofotometri konvensional, spektrum serapan merupakan plot serapan (A) terhadap panjang gelombang (λ), ditransformasikan menjadi plot $dA/d\lambda$ lawan λ untuk derivatif pertama, dan $d^2A/d\lambda^2$ lawan λ untuk derivatif kedua, dan seterusnya. Panjang gelombang serapan maksimum suatu senyawa pada spektrum normal akan menjadi λ zero crossing pada spektrum derivatif pertama. Metode ini merupakan penentuan panjang gelombang analisis dimana senyawa tersebut mempunyai serapan nol dan menjadi panjang gelombang analisis untuk zat lain dalam campurannya (Hayun dkk., 2006). Metode spektrofotometri derivatif dapat digunakan untuk analisis kuantitatif zat dalam campuran dimana spektrumnya mungkin tersembunyi dalam suatu bentuk spektrum besar yang saling tumpang tindih dengan mengabaikan proses pemisahan zat ber-tingkat-tingkat. Dengan metode spektrofotometri derivatif penentuan kadar parasetamol dan kafein dalam tablet obat dapat dilakukan lebih sederhana dengan waktu analisis yang lebih cepat dan biaya yang dibutuhkan lebih murah. Untuk menjamin validitas metode analisis dalam penelitian ini akan dilakukan validasi metode analisis yang meliputi uji linieritas, limit deteksi, limit kuantisasi, presisi, dan persentase perolehan kembali (% *recovery*). Selain itu juga dilakukan optimasi pelarut (metanol 15%, etanol 96% dan metanol:kloroform (1:9) terhadap serapan maksimum dari campuran senyawa parasetamol dan kafein.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah etanol 96% p.a, metanol p.a, kloroform p.a, parasetamol standar, kafein standar, tablet obat yang mengandung parasetamol dan kafein dengan tiga macam merek dagang.

Peralatan

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah spektrofotometer UV-Vis yang dilengkapi dengan komputer, sonikator, neraca analitik, kuvet, lumpang dan alu, alat-alat gelas dan alat-alat lainnya yang diperlukan dalam penyiapan sampel dan larutan.

Cara Kerja

Pembuatan larutan methanol 15% 500 mL

Sebanyak 75 mL metanol p.a dimasukkan ke dalam labu ukur 500 mL, ditambahkan akuades sampai tanda batas.

Pembuatan larutan metanol : kloroform 1:9 500 mL

Sebanyak 50mL larutan methanol dimasukkan kedalam labu ukur 500 mL, ditambahkan dengan kloroform sampai tanda batas.

Pembuatan larutan induk baku parasetamol 100 mg/L

Sebanyak 20 mg baku parasetamol ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 200 mL, dilarutkan dengan etanol 96% hingga larut sampai garis tanda sehingga mendapatkan larutan dengan konsentrasi 100 mg/L. Prosedur yang sama juga digunakan untuk pembuatan larutan induk baku parasetamol dengan pelarut methanol 15% dan metanol : kloroform 1:9.

Pembuatan larutan induk baku kafein 100mg/L

Sebanyak 20 mg baku kafein ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 200 mL, dilarutkan dengan akuades hingga larut sampai garis tanda sehingga memdapatkan larutan dengan konsentrasi 100mg/L. Prosedur yang sama juga digunakan untuk pembuatan larutan induk baku parasetamol dengan pelarut metanol 15% dan metanol : kloroform 1:9.

Penentuan pelarut terbaik untuk analisis campuran parasetamol dan kafein secara simultan

Larutan campuran yang mengandung parasetamol 15mg/L dan kafein 10 mg/L Pembuatan dengan tiga jenis pelarut yaitu etanol 96%, metanol 15% dan metanol : kloroform 1:9. Kemuadian masing masing larutan diukur serapan maksimumnya dengan panjang gelombang normal 200 – 400 nm. Pelarut terbaik dapat

ditentukan dengan melihat pelarut yang memberikan serapan maksimum tertinggi.

Penentuan panjang gelombang (λ) analisis untuk mengukur kadar parasetamol dan kafein secara simultan

Larutan yang berisi campuran parasetamol : kafein (15:2) mg/L ; larutan parasetamol 15 mg/L dan kafein 2 mg/L dilarutkan dalam pelarut terbaik yang sudah ditentukan. Masing masing larutan tersebut diukur serapan normalnya pada panjang gelombang 200-400 nm dan pada serapan derivat pertama pada panjang gelombang 200-400 nm. Spektrum yang dihasilkan dari serapan normal dan derivat pertama di tumpang tindihkan untuk ditentukan panjang gelombang analisis yang tepat untuk mengukur kadar parasetamol dan kafein secara simultan.

Pembuatan kurva kalibrasi dan penentuan linearitas kurva kalibrasi parasetamol dan kafein

Larutan yang berisi campuran parasetamol dan kafein dalam pelarut terbaik yang sudah ditentukan. Pembuatan dengan dengan konsentrasi parasetamol dan kafein yaitu (15:2) mg/L ; (25:4) mg/L ; (35:6) mg/L ; (45:8) mg/L dan (55:10) mg/L. Masing masing larutan diukur serapan maksimum pada panjang gelombang yang sudah ditentukan. Kemudian dilakukan analisis hubungan antara konsentrasi dengan serapan, sehingga diperoleh persamaan regresi linear $y = ax + b$ dilakukan pula validasi metode yang meliputi uji akurasi, presisi, limit deteksi/*limit of detection* (LoD) dan limit kuantitasi/*limit of quantitation* (LoQ).

Uji Akurasi

Larutan yang berisi campuran parasetamol dan kafein dengan konsentrasi (15:2) mg/L ; (25:4) mg/L ; (35:6) mg/L ; (45:8) mg/L dan (55:10) mg/L, diukur masing masing larutan serapan maksimumnya pada panjang gelombang yang sudah ditentukan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Nilai absorbansi dari tiap larutan yang diperoleh digunakan untuk menghitung nilai persentase perolehan kembalinya (*recovery*). Persen perolehan kembali dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{Perolehan Kembali} = \frac{C_a}{C_f} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan:

C_f = Konsentrasi sampel hasil analisis

C_a = Konsentrasi sampel sebenarnya

Uji presisi

Larutan yang berisi campuran parasetamol dan kafein dengan konsentrasi (15:2) mg/L ; (25:4) mg/L ; (35:6) mg/L ; (45:8) mg/L dan (55:10) mg/L, diukur masing masing serapan maksimum-nya pada panjang gelombang yang sudah ditentukan dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali. Data hasil analisis dari masing masing campuran larutan digunakan untuk menghitung nilai SD (Standar Deviasi) dan %RSD (persentase standar deviasi relatif). Uji presisi (keseksamaan) ditentukan dengan parameter RSD (*Relative Standard Deviasi*) dengan rumus:

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

$$RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \% \quad (3)$$

Keterangan:

RSD = standar deviasi relatif

SD = standar deviasi

\bar{x} = kadar rata-rata parasetamol atau kafein dalam sampel

Penentuan LoD dan LoQ

Larutan yang berisi campuran parasetamol dan kafein dengan konsentrasi (15:2) mg/L ; (25:4) mg/L ; (35:6) mg/L ; (45:8) mg/L dan (55:10) mg/L, diukur masing masing serapan maksimum-nya pada panjang gelombang yang sudah ditentukan dan dihitung persamaan kurva kalibrasinya $y = a + bx$, masing masing konsentrasi dilakukan pengulangan pengukuran sebanyak 3 kali. Data hasil analisis dari masing masing campuran larutan digunakan untuk menghitung nilai LoD dan LoQ dengan rumus:

$$LoD = \frac{3 \times S(y/x)}{b} \quad (4)$$

$$LoQ = \frac{10 \times S(y/x)}{b} \quad (5)$$

Dimana $S(y/x)$ merupakan variasi variabel respon (y) yang didapat dari data yang dekat dengan garis regresi (Harmita, 2004):

$$S(y/x) = \sqrt{\frac{\sum(Y-Y_i)}{n-2}} \quad (6)$$

Keterangan:

$S(y/x)$ = Variasi variabel respon dari nilai (y)

b = Slope

Y = Absorbansi hasil pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis

Y_i = Nilai absorbansi hasil substitusi nilai konsentrasi (X) pada persamaan linear

n = Jumlah larutan yang diukur absorbansinya

Penentuan kadar parasetamol dan kafein dalam sediaan tablet

Dari sampel obat merek dagang yang mengandung parasetamol dan kafein ditimbang dengan seksama dan dihitung rata rata bobot sampel tablet. Kemudian diencerkan sampai didapatkan konsentrasi parasetamol dan kafein diatas LoQ yang sudah ditentukan. Larutan kemudian dihomogenkan dengan pengaduk ultrasonik selama 15 menit, larutan tersebut kemudian disaring dan diukur serapannya pada gelombang yang sudah ditentukan untuk analisis parasetamol dan kafein secara simultan. Dari data hasil analisis dihitung nilai konsentrasi parasetamol dan kafein pada sampel dan persentase kesesuaian kadar sampel.

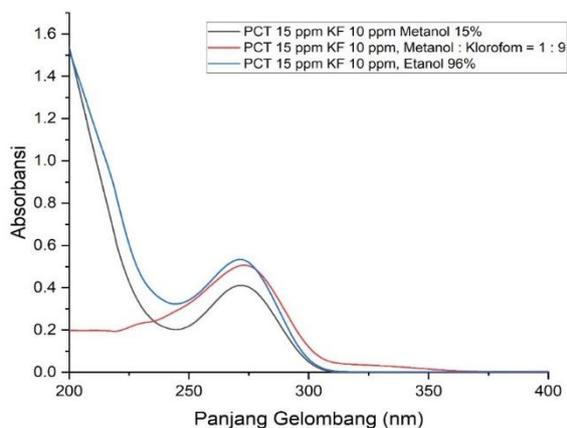
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penentuan Pelarut Terbaik Untuk Analisis Campuran Paracetamol dan Kafein

Hasil penentuan pelarut terbaik untuk analisis campuran parasetamol dan kafein (Gambar 1.) menunjukkan bahwa sampel yang menggunakan pelarut etanol 96% menghasilkan serapan maksimum lebih tinggi dibandingkan dengan sampel yang menggunakan pelarut metanol : kloroform (1:9), dan metanol 15%.

Hasil pada Gambar 1. dapat terjadi karena menurut Farmakope Indonesia edisi III parasetamol dapat larut dalam 7 bagian etanol 95%, 10 bagian metanol dan 50 bagian kloroform. Kafein di katagorikan agak sukar larut dalam etanol 95% yang berarti kafein hanya dapat larut dalam 30 sampai 100 bagian etanol 95%, larut dalam 6 bagian kloroform. Pada penentuan pelarut terbaik (Gambar 5.1) rata-rata perbandingan zat terlarut dan pelarutnya lebih tinggi dari 100 bagian pelarutnya, sehingga besarnya serapan yang

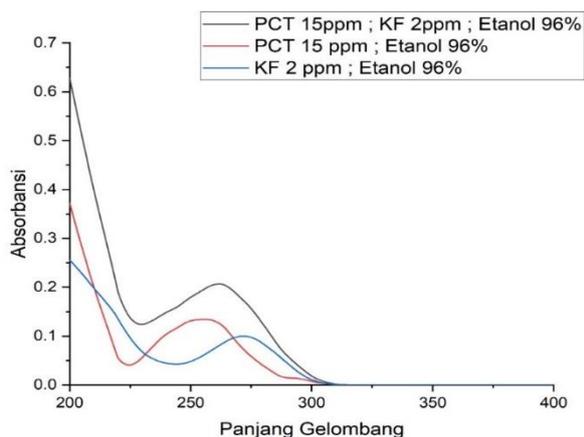
dihasilkan dari masing masing pelarut bergantung pada kemampuan pelarut dalam melarutkan zat terlarutnya. Dengan demikian, selanjutnya analisis campuran parasetamol dan kafein menggunakan pelarut etanol 96%.



Gambar 1. Kurva serapan maksimum penentuan pelarut terbaik untuk analisis campuran parasetamol dan kafein.

Hasil Kurva Serapan Maksimum

Penentuan kurva serapan maksimum dilakukan pada panjang gelombang 200–400 nm. Pengukuran untuk parasetamol dilakukan pada konsentrasi 15 mg/L, untuk kafein pada konsentrasi 2 mg/L serta campuran parasetamol 15 mg/L dan kafein 2 mg/L (Gambar 2).



Gambar 2. Kurva serapan maksimum parasetamol 15 mg/L, kafein 2 mg/L, campuran parasetamol 15 mg/L dan kafein 2 mg/L.

Berdasarkan kurva serapan maksimum diperoleh panjang gelombang parasetamol dengan konsentrasi 15 mg/L adalah pada $\lambda = 256,0$ nm, kafein dengan konsentrasi 2 mg/L pada $\lambda = 272,0$ nm dan campuran parasetamol 15 mg/L dan kafein 2 mg/L pada $\lambda = 262,0$ nm.

Hasil Penentuan Zero Crossing

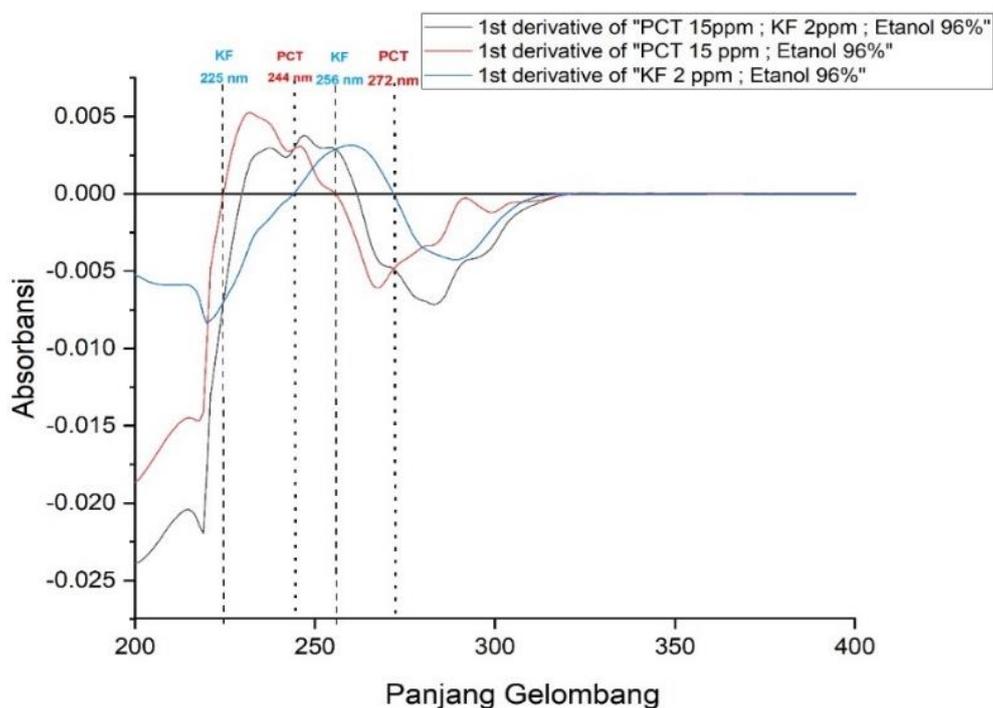
Kurva serapan baku parasetamol dan kafein Pembuatan dengan larutan baku parasetamol 15mg/L, kafein 2mg/L dan campuran parasetamol 15mg/L dan kafein 2mg/L. Kurva serapan baku parasetamol selanjutnya ditransformasikan menjadi kurva serapan derivat pertama kemudian, masing masing konsentrasi ditumpang tindihkan (Gambar 3.)

Parasetamol dan kafein masing masing memiliki dua *zero crossing* pada serapan derivat pertama yang diperoleh pada panjang gelombang 244 nm dan 272 nm untuk parasetamol dan kafein dengan panjang gelombang 225 nm dan 256 nm. Untuk mengetahui lebih tepat dilakukan pemilihan panjang gelombang analisis *zero crossing*.

Penentuan panjang gelombang (λ) *zero crossing* untuk mengukur kadar parasetamol dan kafein secara simultan.

Panjang gelombang analisis *zero crossing* parasetamol dan kafein ditentukan dengan mengukur serapan dari larutan baku kerja campuran parasetamol dan kafein berbagai konsentrasi sehingga, dapat ditentukan nilai koefisien kolerasi (R^2) dari panjang gelombang *zero crossing* masing masing senyawa. Panjang gelombang *zero crossing* masing masing senyawa yang mendekati nilai $R^2 = 1$ merupakan panjang gelombang analisis *zero crossing* dari senyawa tersebut.

Hasil pengukuran nilai R^2 panjang gelombang *zero crossing* masing masing senyawa didapatkan λ *zero crossing* yang digunakan untuk mengukur kadar parasetamol pada campuran parasetamol dan kafein secara simultan yaitu λ *zero crossing* 272 nm dengan nilai R^2 yaitu 0,9994 dan λ *zero crossing* yang digunakan untuk mengukur kadar kafein pada campuran parasetamol dan kafein secara simultan yaitu λ *zero crossing* 256 nm dengan nilai R^2 yaitu 0,9993.



Gambar 3. Kurva penentuan *zero crossing* analisis parasetamol dan kafein.

Uji Linearitas

Nilai koefisien korelasi (R^2) yang dihasilkan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1. Nilai koefisien korelasi (R^2) yang diperoleh dalam hasil penelitian ini telah memenuhi syarat linearitas yaitu lebih besar dari 0,99 (Ermer, J dan Miller, 2005), dapat disimpulkan bahwa berdasarkan uji linearitas metode

spektrofotometri derivatif panjang gelombang (λ) *zero crossing* 272 nm untuk parasetamol dan 256 nm untuk kafein dapat diterima untuk analisis kadar paracetamol dan kafein secara simultan.

Uji Akurasi

Hasil uji akurasi dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Koefisien Korelasi (R^2) Parasetamol dan Kafein pada λ *zero crossing*

| Sampel Larutan Campuran Parasetamol dan Kafein | Koefisien Kolerasi (R^2) | Kesimpulan |
|---|-------------------------------------|------------|
| Parasetamol λ <i>zero crossing</i> 272 nm | $0.99927 \pm 2.3094 \times 10^{-4}$ | > 0,99 |
| Kafein λ <i>zero crossing</i> 256 nm | $0.99933 \pm 2.5166 \times 10^{-4}$ | > 0,99 |

Tabel 2. % Recovery Analisis Sampel Parasetamol dan Kafein dengan metode Spektrofotometri Derivatif *Zero Crossing* secara Simultan

| Kadar Larutan Campuran Parasetamol dan Kafein | | % Recovery \pm SD | | Kesimpulan |
|---|---------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|
| Parasetamol (mg/L) | Kafein (mg/L) | Parasetamol (%Recovery) | Kafein (%Recovery) | |
| 15 | 2 | $100,817 \pm 1,287$ | $101,560 \pm 2,061$ | Nilai % Recovery diantara 80 - 120% |
| 25 | 4 | $99,600 \pm 1,333$ | $99,589 \pm 1,786$ | |
| 35 | 6 | $100,349 \pm 1,010$ | $100,917 \pm 1,190$ | |
| 45 | 8 | $100,272 \pm 0,427$ | $98,604 \pm 0,515$ | |
| Rata - rata (% Recovery) \pm SD | | $100,260 \pm 1,014$ | $100,167 \pm 1,388$ | |

Pada Tabel 2 ditunjukkan bahwa rata-rata nilai % *recovery* yang dihasilkan dalam penelitian ini telah memenuhi syarat akurasi yaitu 80-120% (Ermer, J dan Miller, 2005). Adapun syarat nilai akurasi yang ditetapkan oleh Pihlstrom (2009) yaitu sebesar 70-120%. Nilai akurasi yang mendekati 100% menunjukkan bahwa metode yang diterapkan dalam analisis memiliki tingkat akurasi yang baik sebab memiliki kesesuaian antara nilai rata-rata hasil pengukuran dengan nilai yang sebenarnya (Riyanto, 2014). Dapat disimpulkan bahwa berdasarkan uji akurasi metode spektrofotometri derivatif *zero crossing* dapat diterima untuk analisis kadar parasetamol dan kafein secara simultan.

Uji Presisi

Hasil uji presisi metode spektrofotometri derivative *zero crossing* untuk analisis kadar parasetamol dan kafein secara simultan dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil uji presisi pada Tabel 3 menunjukkan bahwa sampel parasetamol dan kafein yang kadarnya diukur menggunakan metode spektrofotometri derivatif *zero crossing* memiliki nilai %RSD < 2% pada setiap konsentrasi dan rata – rata %RSD dari setiap konsentrasinya. Nilai RSD yang berada pada rentang 1-2% menunjukkan bahwa metode yang diterapkan memiliki tingkat ketelitian yang tergolong cukup teliti (Sumardi, 2002). Dapat disimpulkan bahwa berdasarkan uji presisi metode spektrofotometri derivatif *zero crossing* cukup teliti untuk analisis kadar parasetamol dan kafein secara simultan.

Uji Batas Deteksi (LoD) dan Batas Kuantitasi (LoQ)

Hasil uji LoD dan LoQ metode spektrofotometri derivatif *zero crossing* untuk analisis kadar parasetamol dan kafein secara simultan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 3. Uji Presisi Analisis Sampel Parasetamol dan Kafein dengan metode Spektrofotometri Derivatif Zero crossing

| Kadar Larutan Campuran Parasetamol dan Kafein | | % RSD | | Kesimpulan |
|---|---------------|---------------------|----------------|------------|
| Parasetamol (mg/L) | Kafein (mg/L) | Parasetamol (% RSD) | Kafein (% RSD) | |
| 15 | 2 | 1,857 | 1,565 | %RSD < 2% |
| 25 | 4 | 1,123 | 1,495 | |
| 35 | 6 | 0,946 | 0,985 | |
| 45 | 8 | 0,405 | 0,404 | |
| Rata - rata (% RSD) | | 1,083 | 1,112 | |

Tabel 4. Hasil uji LoD dan LoQ Metode Spektrofotometri Derivatif Zero Crossing Untuk Analisis Kadar Parasetamol Dan Kafein secara Simultan

| Parameter | Sampel Larutan Campuran Parasetamol dan Kafein | |
|------------|--|--------------------|
| | Parasetamol (mg/L) ± SD | Kafein (mg/L) ± SD |
| LoD | 1,946 ± 0,442 | 0,236 ± 0,043 |
| LoQ | 6,486 ± 1,473 | 0,788 ± 0,144 |

Berdasarkan Tabel 4. metode spektrofotometri derivatif *zero crossing* untuk analisis kadar parasetamol memiliki nilai LoD 1,946 mg/L dan

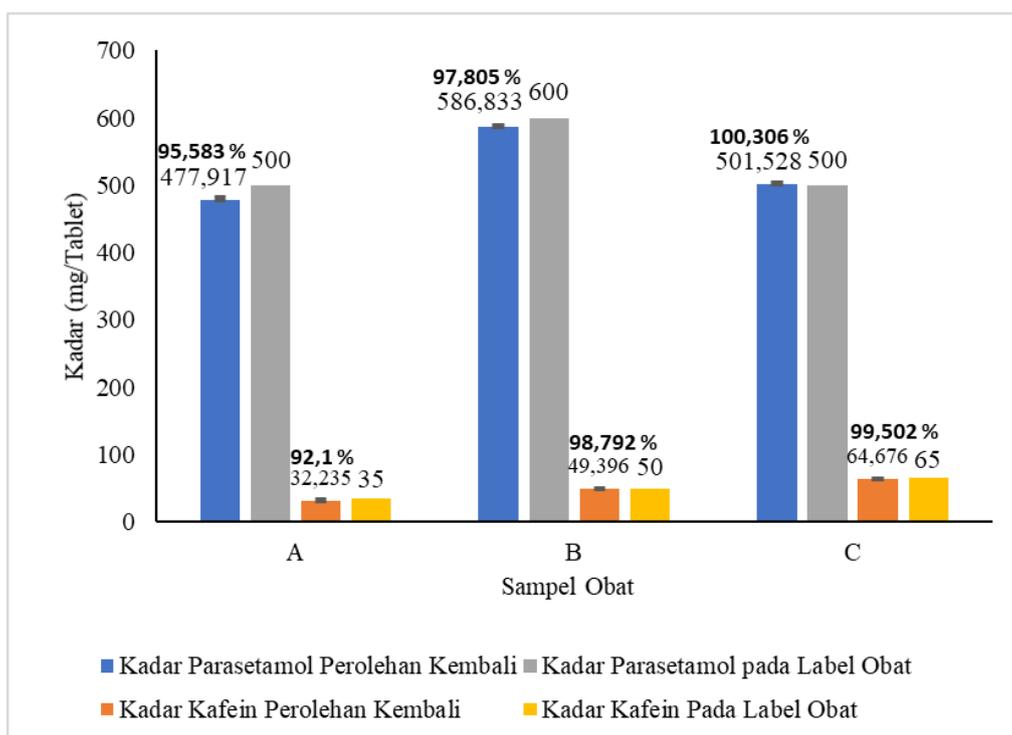
LoQ 6,486 mg/L dapat diartikan bahwa metode spektrofotometri derivatif *zero crossing* dapat memberikan respon terhadap parasetamol pada konsentrasi terkecil 1,946 mg/L dan dapat diukur kadarnya pada konsentrasi terkecil 6,486 mg/L. Pada kafein memiliki nilai LoD 0,236 mg/L dan LoQ 0,788 mg/L dapat diartikan bahwa metode spektrofotometri derivatif *zero crossing* dapat memberikan respon terhadap kafein pada konsentrasi terkecil 0,236 mg/L dan dapat diukur kadarnya pada konsentrasi terkecil 0,788 mg/L. Dapat disimpulkan bahwa berdasarkan uji LoD dan LoQ metode spektrofotometri derivatif *zero crossing* dapat diterima untuk analisis kadar parasetamol dan kafein secara simultan

Penentuan Kadar Parasetamol dan Kafein secara Simultan dalam Sampel Obat dengan Metode Spektrofotometri Derivatif *Zero Crossing*.

Kadar parasetamol dan kafein yang diukur secara simultan pada masing-masing sampel obat dapat dihitung dan hasilnya ditunjukkan pada Gambar 5.

Persentase perolehan kembali pada sampel obat A, B dan C hasil pengukuran kadar dengan

metode spektrofotometri derivatif *zero crossing*. dengan nilai parasetamol dan kafein yang tercantum pada label kemasan sampel obat tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110% berarti perbedaan kadar hasil analisis dengan metode spektrofotometri derivatif *zero crossing* dengan nilai parasetamol dan kafein yang tercantum pada label kemasan sampel obat tidak lebih dari 10% sehingga masih bisa diterima untuk diedarkan di masyarakat sesuai Farmakope Edisi IV.



Gambar 5. Diagram konsentrasi parasetamol dan kafein pada sampel obat dengan metode spektrofotometri derivatif *zero crossing*

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan metode analisis campuran parasetamol dan kafein secara simultan dengan metode spektrofotometri derivatif *zero crossing* memenuhi persyaratan validasi metode ISO/IEC 17025 dan persentase perolehan kembali campuran parasetamol dan kafein dalam sediaan tablet memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia Edisi IV Tahun 1995.

DAFTAR PUSTAKA

Ade dan Kuntari. 2019. Penentuan Kafein dan Parasetamol dalam Sediaan Obat Sakit

Kepala Secara Simultan Menggunakan Spektrofotometer UVVis. *Ind. J. Chem. Anal.*, 2(1): 20 – 27

Ditjen POM. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

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

Ermer, J., dan Miller, J.H.McB. 2005. *Method Validation in Pharmaceutical Analysis, A Guide to Best Practice*. Weinheim : Wiley-VchVerlag GmbH dan Co. KGaA.

Hanwar D., Mutiara P., dan Utami W. 2017. Pengembangan dan Validasi Metode Penetapan Kadar Asetosal dan Dipiridamol

- Secara Simultan dengan Spektrofotometri UV. *The 6th University Research Colloquium*.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1(3): 117 - 135.
- Hayun. 2006. Penetapan Kadar Triprolidin HCl dan Pseudoefedrin HCl dalam Tablet Antiinfluenza Secara Spektrofotometri Derivatif. *Majalah Ilmu Kefarmasian FMIPA UI*. 1(3): 94 - 105.
- Karpinska, J., 2004. Derivative Spectrophotometry Recent Applications and Directions of Development. *Talanta* 64: 801-822.
- Naid, T., Kasim, M., dan Pakaya, M. 2011. Penetapan Kadar Parasetamol dalam Tablet Kombinasi Parasetamol dengan Kofein secara Spektrofotometri Ultraviolet Sinar Tampak. *Majalah Farmasi dan Farmakologi Universitas Hasanuddin*. 15(2): 77 – 82.
- Pihlstrom, T. 2009. *Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residue in Food and Feed*. Sweden: Sanco
- Riyanto. 2014. *Validasi & Verifikasi Metode Uji Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi*. Yogyakarta : Deepublish.
- Sumardi, 2002, *Validasi Metode Pengujian*, Jakarta : Pusat Standardisasi dan Akreditasi Sekretariat Jendral Depertemen Pertanian.