

UJI HIDROLISIS PARASETAMOL DALAM LARUTAN pH 2,0; 5,0; DAN 7,0 PADA SUHU 37 °C

PARACETAMOL HYDROLYSIS TEST IN SOLUTION pH 2.0; 5.0; AND 7.0 AT 37 °C

Wita Febri Astuti^{1,4}, Pudjono^{2*}, Eka Trisnawati³

¹⁻³ Progam Studi Farmasi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Peradaban, Jalan Raya Pagojengan Km 3 Paguyangan Brebes, Jawa Tengah 52276, Indonesia

⁴ PT. Satria Bumikerta-Amida Farma, Jalan Raya Kaligadung Km 4 Bumiayu Brebes, Jawa Tengah 52273, Indonesia

Abstract

Study aims to determine the hydrolysis reaction of paracetamol at 37 °C in a solution of pH 2.0; 5.0; and 7.0 and to determine the levels of p-aminophenol contained in the raw material of paracetamol. This research was conducted Qualitative and Quantitative using the HPLC method, the stationary phase in the form of column L7 (4.6 mm x 25 cm) and the mobile phase in the form of solution A - solution B (20: 80). The p-aminophenol standard was dissolved using the mobile phase at a concentration of 0.1 mg/mL. Test solutions with buffer pH 2.0; 5.0; and 7.0 were first incubated at 37 °C. Determination of p-aminophenol levels by HPLC at a wavelength of 300 nm with a pump pressure of 1 mL/minute with an injection volume of 5 µL. The results of Qualitative test on samples of paracetamol raw materials showed a hydrolysis reaction of paracetamol in a solution of pH 2.0; 5.0; and 7.0. While the results of the Quantitative test on the raw material sample of paracetamol with a concentration per 100 mg/mL triplo injection at pH 2.0; 5.0; and 7.0, the result is pH 2.0, which is 0.275%; pH 5.0 is 0.228%, and pH 7.0 is 0.045%. From these results it can be concluded that the paracetamol sample at pH 2.0 and pH 5.0 did not meet the requirements, while the paracetamol sample at pH 7.0 met the requirements, namely not more than 0.05%.

Article Info

Article history

Submission: September 6, 2022

Accepted: February 15, 2023

Publish: July 30, 2023

Keywords: hydrolysis, HPLC, paracetamol, pH, p-aminophenol

Penelitian bertujuan untuk mengetahui reaksi hidrolisis parasetamol pada suhu 37 °C dalam larutan pH 2,0; 5,0; dan 7,0 serta untuk mengetahui kadar p-aminofenol yang terkandung dalam bahan baku parasetamol. Penelitian ini dilakukan secara Kualitatif dan Kuantitatif dengan menggunakan metode HPLC, fasa diam berupa kolom L7 (4,6 mm x 25 cm) dan fasa gerak berupa larutan A – larutan B (20:80). Standar p-aminofenol dilarutkan menggunakan fase gerak pada konsentrasi 0,1 mg/mL. Larutan uji dengan buffer pH 2,0; 5,0; dan 7,0 pertama kali diinkubasi pada suhu 37 °C. Penetapan kadar p-aminofenol dengan HPLC pada panjang gelombang 300 nm dengan tekanan pompa 1 mL/menit dengan volume injeksi 5 µL. Hasil uji kualitatif terhadap sampel bahan baku parasetamol menunjukkan adanya reaksi hidrolisis parasetamol dalam larutan pH 2,0; 5,0; dan 7,0. Sedangkan hasil uji Kuantitatif pada sampel bahan baku parasetamol dengan konsentrasi triplo per 100 mg/mL injeksi pada pH 2,0; 5,0; dan 7,0, diperoleh pH 2,0 yaitu 0,275%; pH 5,0 adalah 0,228%, dan pH 7,0 adalah 0,045%. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa sampel parasetamol pada pH 2,0 dan pH 5,0 tidak memenuhi persyaratan, sedangkan sampel parasetamol pada pH 7,0 memenuhi persyaratan yaitu tidak lebih dari 0,05%.

Correspondence:

Pudjono,

Progam Studi Farmasi
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Peradaban, Jalan
Raya Pagojengan Km 3
Paguyangan Brebes, Jawa
Tengah 52276, Indonesia
p_jhon@ugm.ac.id

Kata kunci: hidrolisis, HPLC, parasetamol, pH, p-aminofenol

PENDAHULUAN

Parasetamol termasuk golongan obat bebas yang dikenal oleh masyarakat Indonesia dengan sebutan *acetaminopen* [1]. Parasetamol mempunyai sifat fisika kimia seperti serbuk putih, hablur, rasa sedikit pahit, dan tidak berbau [2], jarak lebur parasetamol berkisar 169 – 179 °C [3], parasetamol juga memiliki kelarutan yaitu mudah larut dalam etanol, dalam air dengan suhu 25 °C, sangat mudah larut dalam air mendidih dan natrium hidroksida 1 N [2]. Parasetamol merupakan obat golongan NSAID yang banyak digunakan untuk pengobatan analgetik dan antipiretik [4]. Parasetamol menghasilkan efek antipiretik dan analgetik yang relatif aman dan efektif dalam penggunaannya, serta dapat ditoleransi dengan baik dan mempunyai efek samping yang relatif aman bila digunakan dengan dosis yang dianjurkan [5]. Meskipun mekanisme kerja parasetamol masih belum dipahami dengan jelas, tetapi terdapat hambatan pada aktivitas siklooksigenase (COX) yang dapat mengurangi sintesis prostaglandin pada susunan saraf pusat (Mama & Contino, 2013 and Zulfikar & Carolia, 2019).

Parasetamol termasuk senyawa amida sehingga dapat terhidrolisis dalam larutan asam menjadi *p*-aminofenol dan asam asetat [7]. Hidrolisis secara umum diartikan sebagai reaksi kimia yang disebabkan karena pemecahan ikatan kimia oleh air dan menghasilkan satu atau lebih zat baru [8]. Gugus fungsi yang paling banyak mengalami hidrolisis yaitu golongan amida seperti nikotinamid, parasetamol serta prokainamida dan golongan ester seperti aspirin dan prokain [9]. Secara umum senyawa yang mengandung gugus amida mengalami hidrolisis dengan cara yang sama

dengan senyawa sejenis ester [3]. Hidrolisis amida terjadi karena karbon gugus karbonil menyerang nukleofilik dan selanjutnya memecahkan ikatan tunggal karbon-nitrogen. Karbon pada gugus karbonil mempunyai sifat persial positif karena tingginya elektro aktivitas oksigen yang mendekatnya [9].

Kestabilan parasetamol biasanya dipengaruhi oleh pH. Parasetamol dapat terhidrolisis dalam suasana asam dan basa [1]. Jalur degradasi parasetamol yang menyebabkan ketidakstabilannya yaitu peristiwa hidrolisis yang mengubah struktur parasetamol menjadi *p*-aminofenol yang bersifat toksik. Senyawa *p*-aminofenol adalah metabolit anilin yang toksisitasnya lebih kecil dari pada *orto* dan *meta*-aminofenol, oleh karena itu dilakukan beberapa modifikasi untuk mengurangi toksisitasnya. Efek toksik yang diperoleh *p*-aminofenol dapat diminimalisir dengan modifikasi yang dilakukan pada gugus amina, fenol atau keduanya untuk menghasilkan senyawa yang lebih poten [10]. Parasetamol tidak stabil dalam air pada suasana asam akan mengalami hidrolisis menjadi asam asetat dan *p*-aminofenol [11]. *p*-aminofenol adalah senyawa analgetik kuat dan antiinflamasi lemah yang sangat berbahaya [12]. *p*-aminofenol terpopuler karena gugus *amina* pada asetilasi memberikan efek analgetik yang sering disebut juga *asetaminofen* atau parasetamol. *p*-aminofenol merupakan salah satu dari turunan *anilin* yang masuk kedalam kelompok *amina*. *Anilin* sendiri adalah cairan yang berbentuk seperti minyak, kuning pucat dengan bau khas seperti *amina*. Mengonsumsi atau terpapar lebih banyak turunan *anilin* seperti *p*-aminofenol dapat menyebabkan efek klinis seperti methemoglobinemia akut, dan dapat berefek

buruk terhadap eritrosit dan hati. Methemoglobinemia salah satu protein yang hampir mirip dengan hemoglobin. Metohemoglobinemia adalah kelainan darah yang disebabkan karena darah tidak mampu membawa oksigen kedalam tubuh [13]. Kelebihan senyawa *p*-aminofenol yang merupakan metabolit anilin pada manusia dapat menyebabkan efek klinis seperti metohemoglobinemia akut, dan dapat berefek buruk terhadap eritrosit dan hati [13]. Efek toksik yang diperoleh dari *p*-aminofenol dapat diminimalisir dengan modifikasi yang dilakukan pada gugus amina, fenol atau keduanya untuk menghasilkan senyawa yang lebih poten [10]. Farmakope Indonesia Edisi VI tahun 2020 telah mensyaratkan kadar *p*-aminofenol dalam parasetamol tidak boleh mengandung lebih dari 0,05% *p*-aminofenol [2].

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di PT. Satria Bumikerta-Amida Farma, metode penelitian yang digunakan merupakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) menggunakan kolom ukuran 4,6 mm x 25 cm (L7) dengan ukuran partikel 5 μ L, Fase gerak yang digunakan yaitu larutan A dan larutan B (20:80). Larutan A terdiri dari 1,7 g kalium fosfat monobasa anhidrat P dan 1,8 g/L natrium fosfat dibasa anhidrat P, yang diencerkan sampai sampai 1000 mL. Larutan B terdiri dari metanol P. Pada panjang gelombang 300 nm, tekanan pompa 1 mL/menit dan volume injeksi 5 μ L.

BAHAN. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Standar *p*-aminofenol, sampel bahan baku parasetamol, kalium klorida (Merck), asam klorida

(Merck), kalium fosfat monobasa anhidrat (Merck), natrium hidroksida (Merck), natrium fosfat dibasa anhidrat (Merck), kalium biftalat (Merck), metanol (Merck), aquadest.

ALAT. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi Timbangan analitik (AND GR200), *vacuum pump*, sonikator (Power Sonic), pH meter (Hana Instrument), alat ukur gelas (Duran), mikropipet (Dragon Lab), Inkubator mermet, membran filter nylon 0.45 μ m (Hawach), kolom (L85, ukuran 4,5mm x 15 cm, 5 μ m) (Agilent), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dengan panjang gelombang 300 nm (Agilent-1220).

Validasi Metode Analisa, mengacu pada parameter seperti: uji kesesuaian sistem, uji akurasi, uji presisi, uji lineartitas, uji batas dilakukan dengan cara menghitung Simpangan Baku Relatif (SBR) tidak lebih dari 2,0% sesuai dengan Farmakope Indonesia Edisi VI.

Kualitatif dan Kuantitatif, sampel terlebih dahulu di inkubasi pada pH 2,0; 5,0; dan 7,0 dalam suhu 37 °C. Uji kualitatif dilakukan dengan membandingkan luas area puncak sampel sama dengan luas area puncak standar, sedangkan analisis data kuantitatif dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan menghitung luas area sampel yang diperoleh dibagi rata-rata luas area standar dikali 100%. Hasil perhitungan kadar yang diperoleh tidak lebih dari 0,05%.

$$\% \text{ Kadar} = \frac{\text{Hasil Area Sampel}}{\text{Hasil Rata-rata Area Standar}} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

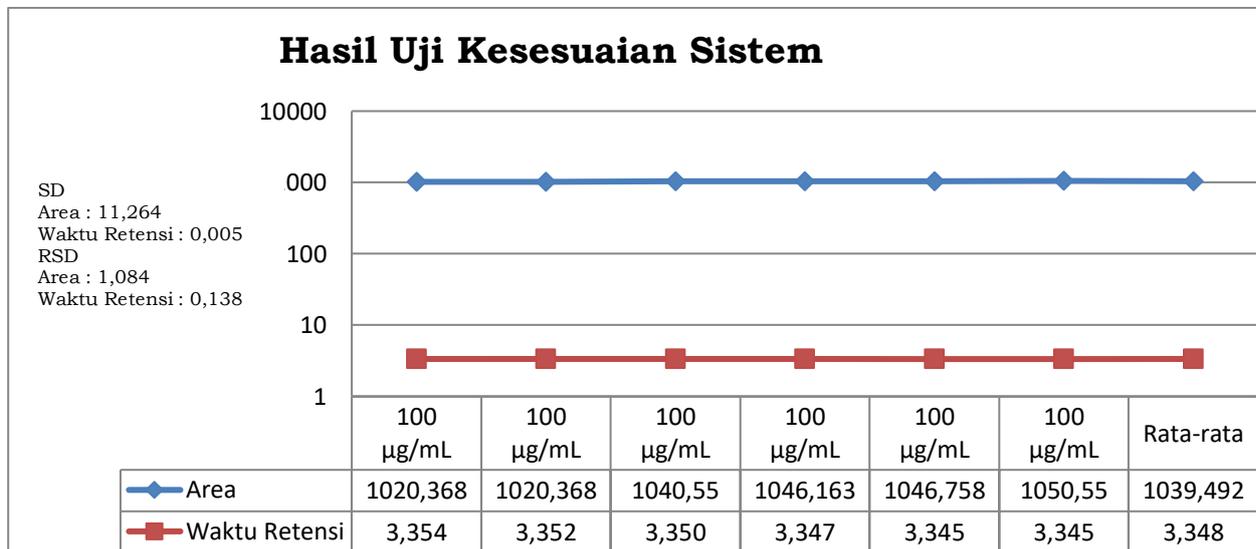
HASIL DAN PEMBAHASAN

Validasi Metode merupakan langkah kerja pengujian yang digunakan untuk menilai tingkat kesesuaian mutu bahan baku dan sediaan farmasi terhadap spesifikasi

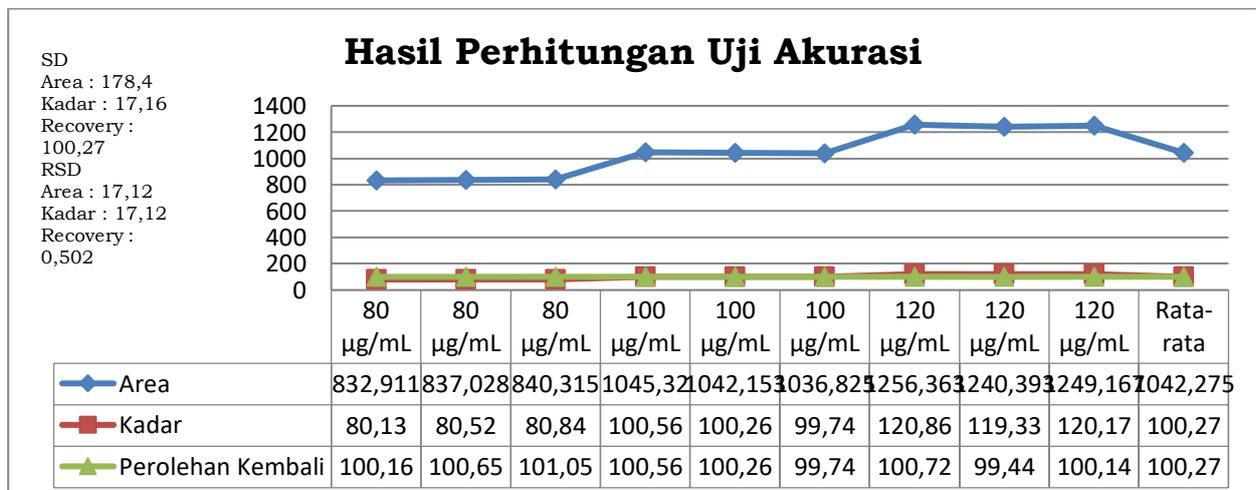
yang telah ditentukan. Validasi merupakan langkah kerja yang telah ditetapkan melalui kajian laboratorium bahwa langkah kerja tersebut telah memenuhi persyaratan sesuai dengan tujuan penggunaannya [2]. Kriteria dilakukan validasi meliputi metode baru yang akan dikembangkan untuk mengatasi persoalan analisis tertentu; metode yang sudah baku, direvisi atau dilakukan review untuk menyesuaikan perkembangan atau karena munculnya suatu persoalan yang mengarahkan bahwa metode baku tersebut harus direvisi; penjaminan dan memastikan

mutu yang mengindikasikan bahwa metode baku telah berubah seiring dengan berjalannya waktu; metode baku yang digunakan di laboratorium yang berbeda, dikerjakan oleh analisis yang berbeda, atau dikerjakan dengan alat yang berbeda; dan untuk mendemonstrasikan kesetaraan antar 2 metode, seperti antara metode baru dan metode lama [14].

Uji Kesesuaian sistem dilakukan dengan menginjeksikan standar parasetamol pada konsentrasi 100 µg/mL (0,1 mg/mL) sebanyak 6 kali pengulangan.



Gambar 1. Perhitungan Hasil Uji Kesesuaian Sistem
Sumber: data primer diolah (2022)



Gambar 2. Perhitungan Hasil Uji Kesesuaian Sistem
Sumber: data primer diolah (2022)

Pada Gambar 1. hasil uji kesesuaian sistem diperoleh hasil rata-rata area standar *p*-aminofenol sebanyak 1039,492 dan rata-rata waktu retensi diperoleh sebanyak 3,348. Nilai SBR diperoleh dari hasil simpangan baku standar dibagi rata-rata standar dikali 100%. Nilai hasil SBR area pada penelitian ini sebesar 1,084%. Hal ini menunjukkan bahwa hasil kesesuaian sistem dengan menggunakan metode cair kinerja tinggi pada analisis standar *p*-aminofenol memiliki kriteria yang sangat baik dan dapat digunakan sebagai acuan, karena nilai keberterimaan SBR area tidak lebih dari 2% sesuai dengan Farmakope Indonesia Edisi VI [2]. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Yusransyah 2014 yaitu "Uji Kesesuaian Sistem Kromatografi Kinerja Tinggi Fase Terbalik Pada Bahan Baku Parasetamol" dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa metode kromatografi cair kinerja tinggi yang digunakan dalam penelitian dapat digunakan sebagai acuan dalam pengujian bahan baku parasetamol [15].

Uji Akurasi adalah pengukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil pengujian dengan kadar analit yang sebenarnya [2]. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan [16]. Uji Akurasi dilakukan dengan menginjeksikan larutan standar parasetamol pada konsentrasi 80 µg/mL, 100 µg/mL dan 120 µg/mL, masing-masing sebanyak 3 kali. Pada Gambar 2. hasil uji akurasi diperoleh hasil rata-rata area sebanyak 1042,275; rata-rata kadar diperoleh sebanyak 100,27%; dan rata-rata kadar perolehan kembali diperoleh sebesar 100,30%. Nilai hasil SBR perolehan kembali pada penelitian ini sebesar 0,50% dari hasil menunjukkan uji akurasi yang dilakukan memiliki tingkat keakuratan yang tinggi,

karena nilai keberterimaan SBR perolehan kembali tidak lebih dari 2% (Farmakope Indonesia Edisi VI tahun 2020). Pada uji akurasi dilakukan dengan cara menganalisis sampel uji lalu sejumlah tertentu analit yang diperiksa *pure analit/standard* ditambahkan kedalam sampel, kemudian dicampur dan dianalisis lagi, disebut dengan metode penambahan baku (*standard addition method*) [17].

Pada gambar 2. area standar dan persen kadar uji akurasi mempunyai perbedaan yang signifikan seperti pada sampel ke-6 dengan konsentrasi 100 µg/mL mengalami penurunan kadar karena kurang tepat peneliti dalam mengambil sampel atau dalam pengambilan pereaksi, hal tersebut terjadi karena micropipet yang digunakan mengalami macet (*trauble*). Untuk mencapai akurasi yang tepat dapat dilakukan dengan mengurangi kesalahan sistemik dengan cara menggunakan alat yang sudah dikalibrasi, menggunakan pereaksi, dan pelarut yang baik seperti pelarut *for analisis* dan pelarut yang sesuai, prosedur yang sesuai dan pengontrolan suhu [14].

Uji Presisi merupakan pengukuran kedekatan antara serangkaian pengujian yang diperoleh dari beberapa kali pengukuran pada larutan uji homogen yang sama [2], [14]. Uji Presisi dilakukan dengan menginjeksikan larutan standar parasetamol pada konsentrasi 100 µg/mL minimal sebanyak 7 kali pengulangan.

Uji presisi dalam penelitian ini dilakukan oleh analis, operator, peralatan yang sama serta dan dalam interval waktu yang singkat. Oleh karena itu uji presisi ini dapat dinyatakan sebagai uji presisi keterulangan (*Repeatability*) [17]. Uji presisi yang dilakukan yaitu uji presisi keterulangan yang bertujuan untuk mengetahui

konsistensi analit, tingkat kesulitan metode, dan kesesuaian metode [17].

Pada Gambar 3. hasil uji presisi diperoleh rata-rata waktu retensi puncak pada menit 3,320; rata-rata area diperoleh hasil 1045,246; dan rata-rata kadar diperoleh sebanyak 101,20%; nilai kadar diperoleh dari perbandingan area pada uji presisi dengan area pada uji kesesuaian sistem dikali dengan 100%. Hasil SBR area/kadar pada penelitian ini sebesar 0,80% menunjukkan uji presisi yang dilakukan mempunyai hasil yang baik, karena nilai keberterimaan SBR tidak lebih dari 1% (Farmakope Indonesia Edisi VI tahun 2020).

Uji linearitas adalah kemampuan metode analisis untuk mengukur dan memberikan hasil uji yang secara langsung atau dengan melalui sistem matematik data yang tepat dan proposional terhadap konsentrasi analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi. Uji linearitas dilakukan dengan menginjeksikan larutan standar parasetamol pada 6 seri konsentrasi yang berbeda meliputi 10, 20, 30, 40, 60, dan 80 µg/mL.

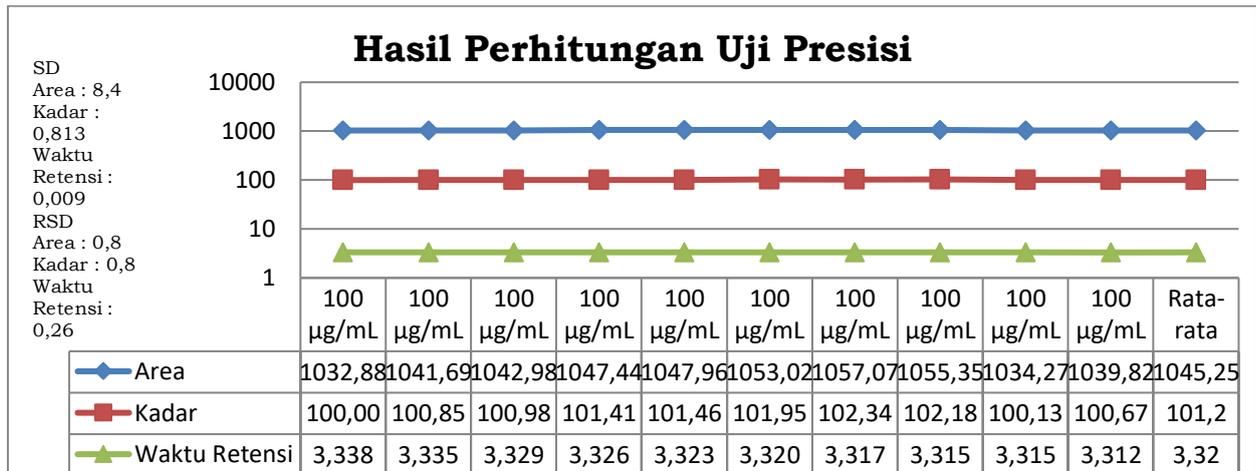
Pada gambar 4. diperoleh hasil uji linearitas area pada konsentrasi 10 µg/mL sebesar 100,093; konsentrasi 20 µg/mL sebesar 210,498; konsentrasi 30 µg/mL sebesar 310,519; konsentrasi 40 µg/mL sebesar 413,348; konsentrasi 60 µg/mL sebesar 610,645; dan konsentrasi 80 µg/mL sebesar 818,058. Pada hasil uji linearitas diperoleh persamaan regresi linear $y = bx + a$ (b menunjukkan slope, a menunjukkan intersep atau kepekaan analisis pada instrument yang digunakan [14], x menunjukkan konsentrasi analit, dan y menunjukkan respon instrument). Hubungan linier yang ideal apabila nilai $a = 0$ dan $r = +1$ atau -1 tergantung pada arah garis

yang diperoleh [17]. Dari hasil uji linearitas diperoleh nilai regresi $y = 10.152x + 6.1079$, dan hasil kolerasi regresi sebesar (0,9995). sehingga hasil tersebut dapat dikatakan linear dan atau mempunyai rentan konsentrasi yang diukur sangat baik, karena menunjukkan nilai kolerasi positif yang ditandai dengan arah garis yang miring ke kanan, dan nilai tersebut mendekati 1 seperti yang dipersyaratkan pada Farmakope Indonesia Edisi VI tahun 2020 [2]. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Yusransyah 2014 yaitu "Uji Kesesuaian Sistem Kromatografi Kinerja Tinggi Fase Terbalik Pada Bahan Baku Parasetamol" dengan hasil penelitian yang menunjukkan hasil yang baik karena masih memenuhi persyaratan APVMA (*Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority*) yang digunakan sebagai acuan [15]

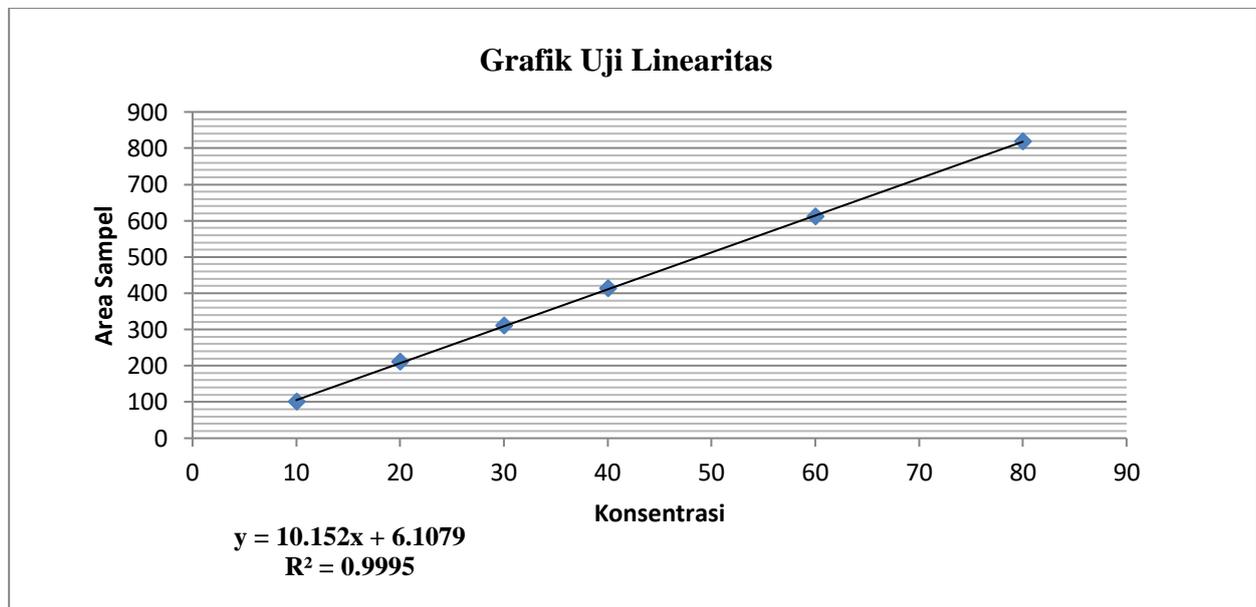
Uji batas deteksi dan uji batas kuantitas, batas deteksi merupakan sejumlah terkecil analit yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon yang signifikan dibandingkan dengan blanko, sedangkan batas kuantitas merupakan parameter pada analisa renik dan yang mempunyai arti sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama. Batas deteksi biasa dinyatakan dalam konsentrasi analit % ppb dari sampel [2]. Uji batas deteksi dan uji batas kuantitas dilakukan dengan menghitung hasil area pada uji linearitas dengan menggunakan rumus perhitungan uji batas deteksi dan uji batas kuantitas.

Pada Tabel 1. Pengujian instrument batas deteksi dan uji batas kuantitas diukur dan dihitung dengan mengukur respon standar *p*-aminofenol sebanyak 6 kali dengan konsentrasi yang berbeda dan dihitung

simpangan baku respon standar *p*-aminofenol



Gambar 3. Perhitungan Hasil Uji Presisi
Sumber: data primer diolah (2022)



Gambar 4. Perhitungan Hasil Uji Linearitas
Sumber: data primer diolah (2022)

Nilai uji batas deteksi pada penelitian ini sebesar 0,16 µg/mL menunjukkan jumlah analit dalam standar *p*-aminofenol yang masih dapat terdeteksi oleh kromatografi cair kinerja tinggi. Dari uji batas deteksi setelah ditambah 3 kali simpangan baku memberikan sinyal yang baik, karena uji batas deteksi dilakukan dengan standar *p*-aminofenol dengan konsentrasi sebesar limit deteksi yang diperoleh dari hasil perhitungan. Sedangkan uji batas kuantitas dihitung dari data kurva kalibrasi yang berhubungan langsung dengan absorbansi versus konsentrasi, menggunakan

persamaan garis linier $y = a + bx$ dengan nilai persamaan garis regresi linier yang diperoleh yaitu $y = 10.152x + 6.1079$. Dari hasil uji batas kuantitas setelah ditambah 10 kali simpangan baku diperoleh hasil sebesar 0,54 µg/mL menunjukan kuantitas terkecil dari analit yang masih dapat memenuhi kriteria teliti dan seksama. Uji batas deteksi dan uji batas kuantitas tidak dapat dipisahkan karena keduanya mempunyai hubungan yang sangat kuat dan keduanya tidak ada perbedaan yang signifikan [17].

Tabel 1. Hasil Perhitungan Uji Batas Deteksi dan Uji Batas Kuantitatif

Konsentrasi	Yi	y bar	yi-y bar	(yi-y bar) ²
10 µg/mL	100.093	1020.368	-920.275	846906.0756
20 µg/mL	210.498	1032.561	-822.063	675787.576
30 µg/mL	310.519	1040.550	-730.031	532945.261
40 µg/mL	413.348	1046.163	-632.815	400454.8242
60 µg/mL	610.645	1046.758	-436.113	190194.5488
80 µg/mL	818.058	1050.550	-232.492	54052.53006
Rata-rata	410.5268333	1039.492	-628.965	450056.8026
Simpangan Baku	265.5255759	11.26465	255.6405	297362.5246
Jumlah Sampel				6
Jumlah Sampel-2				4
Selisih Taksir Standar				545.3095677
Batas Deteksi				0.161143489
Batas Kuantitatif				0.537144964
A	61079			
B	10152			

Uji Kualitatif dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Pada tabel 2. hasil uji kualitatif waktu retensi standard *p*-aminofenol pada konsentrasi 100 µg/mL yang diinjeksikan sebanyak 3 kali diperoleh hasil rata-rata 3,341; sedangkan waktu retensi puncak sampel parasetamol pada pH 2,0 diperoleh hasil rata-rata 3,402; pH 5,0 diperoleh hasil rata-rata 3,419; dan pH 7,0 diperoleh hasil 3,399; dan luas area standar sebesar rata-rata 3,341; sehingga hasil

tersebut sesuai dengan sertifikat analisis Badan Penelitian Obat dan Makanan yang menyebutkan bahwa waktu retensi puncak utama pada kromatogram larutan uji (sampel parasetamol) sama dengan larutan baku (standar *p*-aminofenol) [18]. Dari tabel 6. hasil kromatogram larutan standar yang diperoleh juga data area yang menunjukkan tingginya konsentrasi, maka areanya semakin luas. Hal ini menunjukkan bahwa luas area standar dengan luar area sampel selalu berbanding lurus. Hasil analisis kuantitatif dapat

disimpulkan bahwa semua sampel parasetamol dinyatakan positif mengandung *p*-aminofenol. Hasil uji kualitatif waktu retensi standard *p*-aminofenol pada konsentrasi 100 µg/mL yang diinjeksikan sebanyak 3 kali diperoleh hasil rata-rata 3,341; sedangkan waktu retensi puncak sampel parasetamol pada pH 2,0 diperoleh hasil rata-rata 3,402; pH 5,0 diperoleh hasil rata-rata 3,419; dan pH 7,0 diperoleh hasil 3,399; dan luas area standar sebesar rata-rata 3,341; sehingga hasil tersebut sesuai dengan sertifikat analisis Badan Penelitian Obat dan Makanan yang menyebutkan bahwa waktu retensi puncak utama pada kromatogram larutan uji (sampel parasetamol) sama dengan larutan baku (standar *p*-aminofenol) [18]. Dari tabel 6. hasil kromatogram larutan standar yang diperoleh juga data area yang menunjukkan tingginya konsentrasi, maka

areanya semakin luas. Hal ini menunjukkan bahwa luas area standar dengan luar area sampel selalu berbanding lurus. Hasil analisis kuantitatif dapat disimpulkan bahwa semua sampel parasetamol dinyatakan positif mengandung *p*-aminofenol.

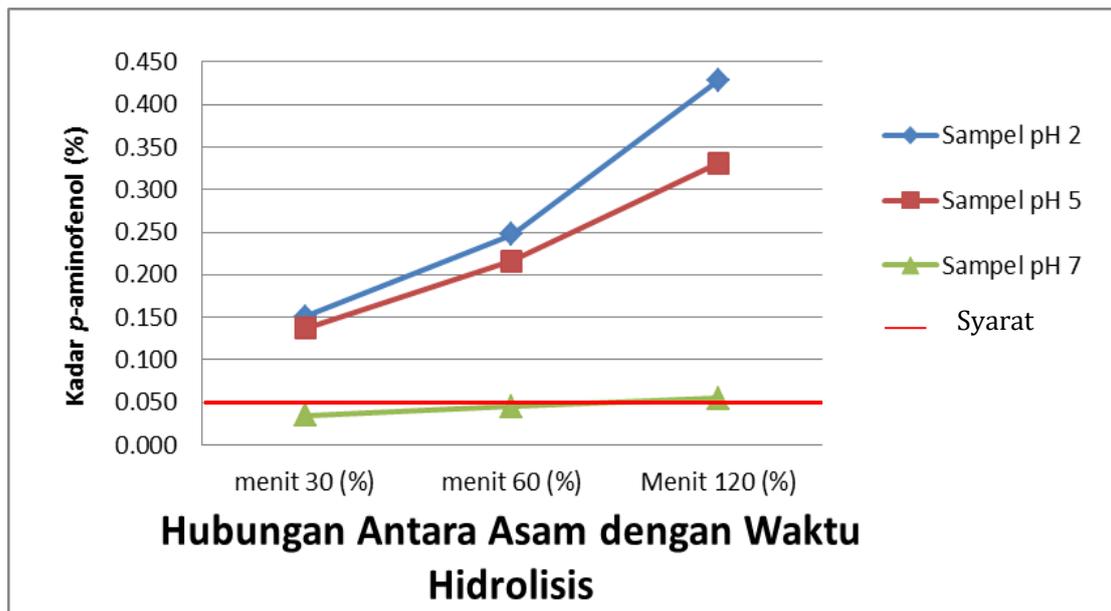
Uji Kuantitatif, Penetapan kadar pada sampel parasetamol dilakukan dengan kondisi alat yang sama seperti pada saat validasi. Luas area standar *p*-aminofenol dan luas area sampel uji dengan pH (2,0; 5,0; dan 7,0) dan waktu (15, 60, dan 120 menit) uji yang berbeda pada tabel 3. Puncak kromatogram standar *p*-aminofenol muncul rata-rata pada menit 3,341 dan luas area kromatogram rata-rata sebesar 329998,767. Dari hasil yang diperoleh menunjukkan kromatogram dan luas area yang muncul akan dijadikan sebagai acuan pembandingan terhadap sampel yang akan diinjeksikan.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Uji Kualitatif

Sampel	Hasil			Rata-Rata	SD	RSD
	15	60	120			
Waktu Retensi Standar		3.341		3.341	0.000	0.000
Waktu Retensi Sampel PCT pH 2,0	3.408	3.399	3.398	3.402	0.006	0.162
Waktu Retensi Sampel PCT pH 5,0	3.457	3.400	3.401	3.419	0.033	0.954
Waktu Retensi Sampel PCT pH 7,0	3.395	3.406	3.395	3.399	0.006	0.187

Tabel 3. Hasil injeksi standar *p*-aminofenol

Sampel	Area Standar	Waktu Retensi
1	329998.760	3.341
2	329997.770	3.341
3	329999.770	3.341
Rata-rata	329998.767	3.341
Simpangan baku	1.000	0.000
Simpangan baku relatif	0.000	0.005



Gambar 5. Hasil injeksi sampel parasetamol pH 2,0; 5,0; dan 7,0

Pada gambar 5. hasil sampel parasetamol dalam larutan pH 2,0 pada suhu 37 °C di menit ke-15 menunjukkan hasil 0,150%; pada menit ke-60 menunjukkan hasil 0,247%; dan menit ke-120 menunjukkan hasil 0,429%. Hasil sampel parasetamol dalam larutan pH 5,0 pada suhu 37 °C di menit ke-15 menunjukkan hasil 0,137%; pada menit ke-60 menunjukkan hasil 0,216%; dan menit ke-120 menunjukkan hasil 0,331%. Dari hasil data tersebut dapat dikatakan bahwa kadar sampel parasetamol pH 2,0 dan 5,0 menunjukkan adanya *p*-aminofenol pada sampel tersebut, sehingga hasil tersebut tidak sesuai dengan persyaratan Farmakope Indonesia Edisi VI atau dapat dikatakan bahwa parasetamol pH 5,0 terhidrolisis pada larutan asam, hal tersebut sama dengan teori yang dijabarkan oleh Ulfa 2019 yang menyebutkan bahwa parasetamol dapat terhidrolisis dalam suasana asam dan basa. hasil sampel parasetamol dalam larutan pH 7,0 pada suhu 37 °C di menit ke-15 menunjukkan hasil 0,035%; pada menit ke-60 menunjukkan hasil 0,045%; dan menit ke-120 menunjukkan hasil 0,055%. Kadar sampel parasetamol pH 7,0 menunjukkan

tidak adanya kandungan *p*-aminofenol pada sampel tersebut, hal tersebut sesuai dengan persyaratan Farmakope Indonesia Edisi VI yaitu 0,05% dan telah memasuki syarat, karena sampel parasetamol pada pH 7,0 (netral) tidak dapat terhidrolisis.

KESIMPULAN

Penelitian dilakukan dengan uji kualitatif menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan menggunakan 3 sampel bahan baku parasetamol pada suhu 37 °C pada pH 2,0; 5,0; dan 7,0 dengan waktu yang berbeda yaitu 15 menit, 60 menit dan 120 menit dari hasil tersebut dapat disimpulkan terjadinya hidrolisis pada sampel parasetamol atau positif mengandung *p*-aminofenol. Penelitian selanjutnya pada uji kuantitatif dengan menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi menunjukkan kandungan *p*-aminofenol pada 3 sampel bahan baku parasetamol dengan pengulangan penyuntikan sebanyak 3 kali per 100 mg/mL pada pH 2,0; 5,0; dan 7,0 dan waktu yang berbeda dapat disimpulkan bahwa sampel

parasetamol pH 2,0 (0,15%; 0,25%; dan 0,43%), dan sampel parasetamol pH 5,0 (0,14%; 0,22%; dan 0,33%) menunjukkan adanya *p*-aminofenol pada sampel tersebut, sehingga hasil tersebut tidak sesuai dengan persyaratan Farmakope Indonesia Edisi VI. Sedangkan sampel parasetamol pH 7,0 (0,04%; 0,05%; dan 0,06%) menunjukkan tidak adanya kandungan *p*-aminofenol pada sampel tersebut, hal tersebut sesuai dengan persyaratan Farmakope Indonesia Edisi VI yaitu 0,05% dan telah memasuki syarat.

SARAN

Konsentrasi pada saat inkubasi sampel parasetamol dilakukan dengan konsentrasi yang pekat, karena semakin pekat konsentrasi sampel akan semakin baik *peak* yang dihasilkan. Perbandingan polaritas larutan fase gerak (Larutan A : Larutan B) agar divariasikan, sehingga menghasilkan polaritas larutan fase gerak yang berbeda sehingga *peak* parasetamol dapat memisah.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] D. M. Ulfa, N. Riski, and D. Irwandi, "Assay of Paracetamol Syrup in Different Storage Temperatures by High Performance Liquid Chromatography," *Teknol. dan Seni Kesehat.*, vol. 10, no. 1, pp. 72–80, 2019.
- [2] Anonim, *Farmakope indonesia Edisi VI*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI, 2020.
- [3] K. B. Kuncoro, "Validasi Metode dan Penetapan Kadar Parasetamol Dalam Jelly Secara HPLC," Universitas Santa Dharma Yogyakarta, 2010.
- [4] K. Vijayakaran *et al.*, "Arsenic Reduces The Antipyretic Activity of Paracetamol in Rats: Modulation of Brain COX-2 Activity and CB1 Receptor Expression," *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, vol. 37, no. 1, pp. 438–447, 2014.
- [5] R. Pratiwi, "N-Acetylcysteine Sebagai Terapi Toksisitas Acetaminophen," *J. Med. Utama*, vol. 02, no. 01, pp. 402–406, 2020.
- [6] S. W. Saliba *et al.*, "Paracetamol Metabolite, Prevents Prostaglandin Synthesis In Activated Microglia By Inhibiting COX Activity," *J. Neuroinflammation*, vol. 14, no. 1, pp. 1–11, 2017.
- [7] M. S. Zulfikar and N. Carolia, "Efektivitas Acetaminophen dan Antidepresan dalam Tatalaksana Nyeri," *Majority*, vol. 8, no. 2, pp. 221–226, 2019.
- [8] E. Praputri, E. Sundari, F. Firdaus, and S. Sofyan, "Penggunaan Katalis Homogen dan Heterogen pada Proses Hidrolisis Pati Umbi Singkong Karet Menjadi Glukosa," *J. Litbang Ind.*, vol. 8, no. 2, pp. 105–110, 2018.
- [9] D. Cairns, "Buku Intisari Kimia Farmasi," in *Essentials of Pharmaceutical Chemistry*, 2nd ed., J. Simanjutak, Ed. Jakarta: Ilmu Kedokteran, 2010, p. 223.
- [10] Pudjono, S. S. Susilowati, and Rehana, "Pemodelan Senyawa Turunan *p*-aminofenol sebagai Analgetik Anti-Inflamasi Berdasarkan Hubungan Struktur dan Aktivitas Biologisnya," *Maj. Farm. Indones.*, vol. 22, no. 2, pp. 144–150, 2011.
- [11] I. Zulkarnain, "Stabilitas Kimia Dan Usia Simpan Sirup Parasetamol Pada Berbagai Suhu Penyimpanan," *J. Ilm. As-Syifaa*, vol. 6, no. 1, pp. 17–24, 2014.
- [12] H. Barru, H. Fajar, D. Rashati, F. Suryaningsih, and A. F. Jember, "Karakterisasi Senyawa Snalgetika-Antiinflamasi *n*-(4*t*-Butilbenzoil)-*p*-aminofenol yang Disintesis dengan

- Katalis Asam," *Ilum. Kesehatan.*, vol. 2, pp. 41–46, 2017.
- [13] S. Purnawati, "Pengaruh Paparan Anilin Terhadap Kesehatan Pekerja," in *Prosiding Seminar dan Workshop PEI 2017*, 2017, vol. 3, pp. 1–15.
- [14] M. Susanti and Dachriyanus, *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Padang: Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas, 2017.
- [15] Yusransyah, R. C. Maghfiroh, and A. Rochmat, "Uji Kesesuaian Sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Fase Terbalik pada Bahan Baku Parasetamol," *Farmagazine*, vol. I, no. 2, pp. 35–41, 2014.
- [16] P. D. Riyanto, *Validasi dan Verifikasi Metode Uji*, 1st ed., vol. 53, no. 9. Yogyakarta: CV. Budi Utama, 2013.
- [17] P. D. Riyanto, *Validasi dan Verifikasi Metode Uji*. Yogyakarta: CV. Budi Utama, 2014.
- [18] BPOM, *Sertifikat Analisis*, no. 23. Jakarta: Badan Penelitian Obat dan Makanan, 2019.