

SIMULTANEOUS DETERMINATION OF PARACETAMOL AND IBUPROFENE MIXTURES BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Penetapan secara Simultan Campuran Parasetamol dan Ibuprofen dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

*Sophi Damayanti, Slamet Ibrahim, Kumia Firman, Daryono H. Tjahjono
Unit Bidang Ilmu Farmasi Analisis, Departemen Farmasi
Institut Teknologi Bandung, Bandung*

ABSTRACT

Analytical method for the determination of paracetamol and ibuprofen mixtures has been developed by High Performance Liquid Chromatography using C-18 column and acetonitrile – phosphate buffer pH = 4.5 (75:25) containing 0.075 % sodium hexanesulfonate as a mobile phase. The detector was set at 215 nm. Using such conditions, retention time for paracetamol and ibuprofen was 4.89 and 7.11 min, respectively. The recovery for paracetamol and ibuprofen was found to be 101.07 ± 0.73 % and 102.02 ± 1.58 %, respectively. The detector limits of the method was 1.30 and 1.60 $\mu\text{g/ml}$ with the relative standard deviation (RSD) 0.74 and 1.52 % for paracetamol and ibuprofen, respectively.

Keywords: paracetamol, ibuprofen, multi-component, validation, HPLC.

PENDAHULUAN

Sediaan farmasi yang beredar di perdagangan sering berbentuk kombinasi campuran berbagai zat berkhasiat. Kombinasi ini bertujuan untuk meningkatkan efek terapi dan kemudahan dalam pemakaian. Salah satu sediaan yang populer saat ini adalah kombinasi parasetamol dan ibuprofen yang merupakan obat analgesik.

Penetapan kadar sediaan farmasi yang mengandung dua atau lebih zat aktif dengan spektrofotometri ultraviolet umumnya memerlukan proses pemisahan terlebih dahulu misalnya dengan ekstraksi yang tentunya membutuhkan waktu yang lebih lama [1,2]. Metode yang saat ini banyak digunakan adalah kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) yang dapat menganalisis berbagai sediaan multi komponen dengan hasil yang baik dalam kondisi analitik yang optimum. KCKT adalah kromatografi kolom modern yang merupakan hasil pengembangan dari kromatografi kolom. KCKT menggunakan partikel kecil dalam kolom kecil dengan sistem pompa bertekanan tinggi dan detektor yang sensitif. Keunggulan KCKT adalah memberikan pemisahan yang cepat, efisien dan resolusi yang tinggi [3,4,5,6]. Tujuan penelitian ini adalah pengembangan metode penetapan kadar campuran parasetamol dan ibuprofen dalam sediaan tablet dengan KCKT.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan alat

Ibuprofen diperoleh dari BPFI-PPOM dan PT Combiphar dengan kadar masing-masing 100,1 dan 98,9%. Parasetamol juga diperoleh dari BPFI-PPOM dan PT Combiphar dengan kadar masing-masing 100,74 dan 100,22%. Asetonitril, kalium dihidrogen fosfat, aquabidestilata dan natrium heksan sulfonat dibeli dari Merck dan Sigma-Aldrich. Adapun peralatan yang digunakan adalah Kromatograf (Hitachi Seri 7000), kolom ODS-Hypersil, 5 μm , panjang 200 \times 4,6 mm (Hewlett Packard), alat ultrasonikasi, pH meter (Beckman), pompa vakum, timbangan analitik listrik (Mettler), alat penyaring dan alat-alat gelas yang umum di laboratorium analisis.

Penentuan kondisi metode kromatografi cair kinerja tinggi

Metode KCKT terdiri atas penentuan kesesuaian sistem dan pembuatan kurva kalibrasi dilanjutkan dengan validasi metode. Penentuan kondisi optimum meliputi penyiapan larutan baku, penyiapan fase gerak dan disimpulkan dalam uji kesesuaian sistem.

Penyiapan larutan baku

Larutan baku dibuat dengan mencampurkan parasetamol dan ibuprofen kemudian dilarutkan dalam asetonitril sampai diperoleh konsentrasi parasetamol 130 $\mu\text{g/mL}$ dan ibuprofen 150 $\mu\text{g/mL}$, kemudian disaring dan disonikasi.

Penyiapan fase gerak

Fase gerak dipilih yang sesuai dengan kelarutan setiap bahan aktif yang akan digunakan pada campuran. Dalam hal ini fase gerak yang digunakan adalah campuran asetonitril:dapar fosfat 0,05 M pH 4,5 (75:25) dengan penambahan natrium heksan sulfonat 0,075%.

Uji kesesuaian sistem

Kondisi optimum untuk pengukuran dicari dengan melakukan berbagai parameter perbandingan fase gerak, laju alir, panjang gelombang, waktu retensi, jumlah lempeng, faktor kapasitas, faktor selektivitas, koefisien variasi dan kesimetrisan. Detektor yang digunakan adalah detektor ultra violet, dan setelah optimasi, panjang gelombang pengukuran adalah pada panjang gelombang 215 nm. Hasil penentuan uji kesesuaian sistem dapat dilihat Tabel 1.

Pembuatan kurva kalibrasi

Kurva kalibrasi diperoleh dengan mengukur luas puncak dari larutan baku masing-masing parasetamol BPF1 dan ibuprofen BPF1 dengan

konsentrasi tertentu. Dari hubungan konsentrasi larutan baku terhadap luas kromatogram terukur, diperoleh persamaan regresi linear. Hasil dapat dilihat dalam Tabel 2 dan 3 serta pada Gambar 2 dan 3.

Validasi metode kromatografi cair kinerja tinggi

Validasi metode meliputi kecermatan, keseksamaan, linieritas, batas deteksi dan batas kuantisasi.

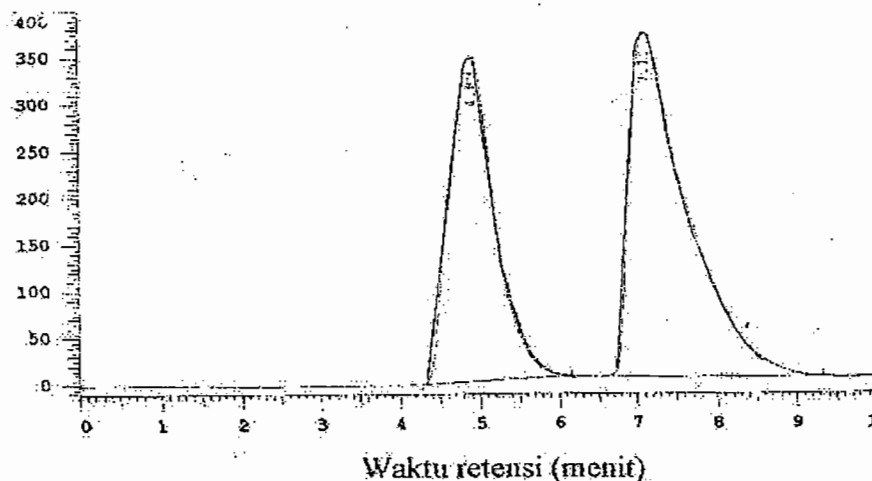
Kecermatan

Kecermatan dievaluasi dengan cara menentukan perolehan kembali sejumlah analit yang ditambahkan ke dalam basis tablet (metode simulasi atau *spiked placebo recovery method*). Ke dalam masing-masing enam labu takar 100 mL dimasukkan sejumlah sampel simulasi yang mengandung campuran zat parasetamol dan ibuprofen yang ditimbang seksama, didispersikan dalam asetonitril, disaring, diencerkan dan dionikasi. Dianalisis dengan metode KCKT dan dihitung persen perolehan kembali. Hasil dapat dilihat pada Tabel 4 dan 5.

Tabel 1 Uji kesesuaian sistem

Dapar fosfat : asetonitril	Laju alir (mL/menit)	t_R (menit)	R_s	Parameter Kondisi Optimum
25:75*)	0,5	P = 4,89 I = 7,11	1,78	$k' = 1,44, A_s = 1,40$
25:75	0,75	P = 3,14 I = 4,61	0,74	$KV(\%)P = 0,75, I = 1,50$
30:70	1	P = 2,39 I = 3,63	0,64	$\alpha = 1,50, N = 3540,50$

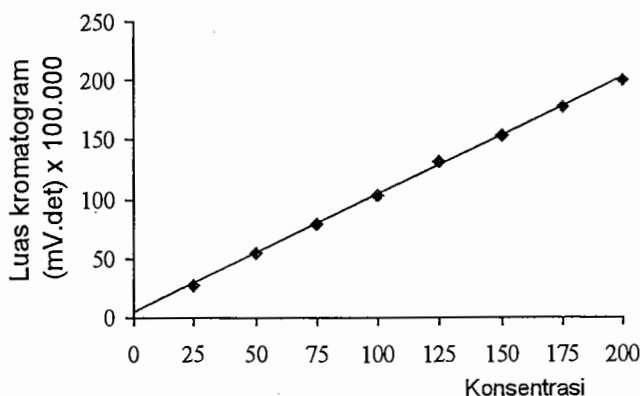
Keterangan : t_R = waktu retensi, R_s = resolusi, k' = faktor kapasitas, α = faktor selektivitas, N = efisiensi kolom, A_s = kesimetrisan, KV = koefisien variasi, P = parasetamol, I = ibuprofen
*) = kondisi optimum



Gambar 1 Kromatogram HPLC untuk uji kesesuaian sistem

Tabel 2 Kurva kalibrasi parasetamol dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi

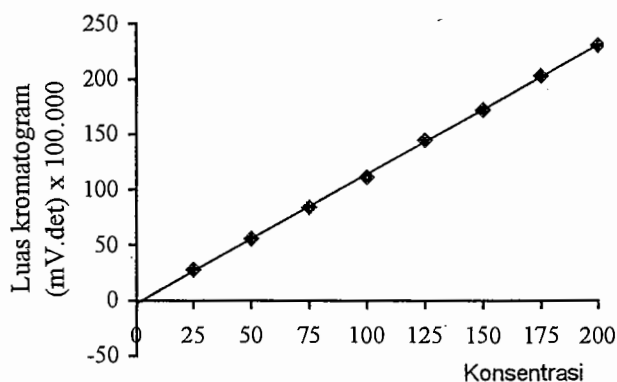
Konsentrasi (µg/mL)	Luas kromatogram (mV.det)
25	2711950,0
50	5450351,0
75	7882126,5
100	10282658,5
125	13123303,5
150	15392639,0
175	17863019,0
200	20065143,0



Gambar 1 Kurva kalibrasi parasetamol dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi. (Keterangan : Persamaan garis : $y = 99480x + 404906$, $r = 0,9993$ Batas deteksi : 1,30 µg/mL, Batas kuantisasi : 4,30 µg/mL)

Tabel 3 Kurva kalibrasi ibuprofen dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi

Konsentrasi (µg/mL)	Luas kromatogram (mV.det)
25	2745242,5
50	5560908,0
75	8384560,5
100	11096039,0
125	14439554,5
150	17155355,5
175	20229260,0
200	22998470,0



Gambar 3 Kurva kalibrasi ibuprofen dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi. Keterangan : Persamaan garis : $y = 116557x - 286518$, $r = 0,9996$ batas deteksi : 1,60 µg/mL, batas kuantisasi : 5,48 µg/mL

Tabel 4 Penentuan kecermatan dan keseksamaan parasetamol

Kadar yang ditimbang (mg)	Kadar yang diperoleh (mg)	Perolehan kembali (%)
55 mg	54,90	99,82
	55,65	101,18
	55,35	100,64
	55,95	101,73
	55,83	101,51
	55,92	101,68

Keterangan : Rata-rata perolehan kembali = 101,07%, koefisien variasi = 0,73, simpangan baku = 0,74%.

Tabel 5 Penentuan kecermatan dan keseksamaan ibuprofen

Kadar yang ditimbang (mg)	Kadar yang diperoleh (mg)	Perolehan kembali (%)
53 mg	52,88	99,76
	53,28	100,53
	53,91	101,72
	54,81	103,42
	54,78	103,36
	54,81	103,42

Keterangan : Rata-rata perolehan kembali = 102,02%, koefisien variasi = 1,58, simpangan baku = 1,52%.

Tabel 6 Kadar parasetamol dalam tablet perdagangan

Kadar tiap tablet ^{a)} (mg)	Kadar yang diperoleh/tablet (mg)	Kadar ^{b)} (%)
325	345,37	106,27
	349,79	107,63
	350,50	107,85
	351,80	108,25
	350,35	107,80
	350,48	107,84

Keterangan : ^{a)} = etiket, ^{b)} = persen perbandingan dengan etiket, kadar rata-rata = 106,35%, simpangan baku = 4,98, koefisien variansi = 4,68%.

Tabel 7 Kadar ibuprofen dalam tablet perdagangan

Kadar tiap tablet ^{a)} (mg)	Kadar yang diperoleh/tablet (mg)	Kadar ^{b)} (%)
200	208,50	104,25
	208,72	104,36
	209,44	104,72
	209,52	104,76
	211,40	105,70
	209,54	104,77

Keterangan : ^{a)} = etiket, ^{b)} = persen perbandingan dengan etiket, kadar rata-rata = 104,76%, simpangan baku = 0,51, koefisien variansi = 0,48%.

Keseksamaan

Keseksamaan diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Hasil dapat dilihat pada Tabel 4 dan 5.

Linearitas

Uji linearitas metode analisis dilakukan menggunakan satu seri larutan campuran yang berbeda konsentrasinya pada pembuatan kurva kalibrasi kemudian dilihat linearitasnya dari koefisien korelasi.

Batas deteksi dan batas kuantisasi

Penentuan batas deteksi dan batas kuantisasi dilakukan dengan cara perhitungan menggunakan rumus.

Penetapan kadar tablet dari perdagangan

Pengujian kadar sediaan di perdagangan dilakukan dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi. Hasil dapat dilihat pada Tabel 6 dan 7.

PEMBAHASAN

Penetapan kadar dengan kromatografi cair kinerja tinggi terlebih dahulu dilakukan dengan memilih kondisi optimum. Kondisi optimum diambil setelah dilakukan serangkaian kesesuaian sistem. Fasa gerak yang dipilih adalah kombinasi asetonitril dan dapar fosfat pH 4,5 dengan perbandingan 75:25. Perbandingan ini diambil karena memberikan pemisahan yang baik antara parasetamol dan ibuprofen.

Laju alir 0,5 mL merupakan kecepatan alir yang optimum, walaupun kecepatan alir pada umumnya 1-2 mL/menit,[4] tetapi dengan laju aliran 0,5 mL/menit pengukuran dapat dilakukan dalam waktu cepat yaitu waktu retensi parasetamol 4,89 menit dan ibuprofen 7,11 menit yang menunjukkan waktu retensi yang cukup untuk penetapan kadar suatu senyawa yang umumnya di antara 10-20 menit.[4] Selain itu dengan kecepatan alir yang kecil, dapat menghemat penggunaan fasa gerak. Penambahan natrium heksan sulfonat dimaksudkan untuk meningkatkan retensi dan memperoleh bentuk kromatogram yang lebih baik. Konsentrasi yang ditambahkan 0,075% merupakan konsentrasi yang optimum. Resolusi pada kondisi optimum menunjukkan pemisahan yang memenuhi syarat yaitu 1,78, faktor kapasitas 1,44, jumlah lempeng 3540,50, kesimetrisan 1,4 dan faktor selektivitas 1,5. Uji kesesuaian sistem memberikan hasil yang baik dan sesuai dengan persyaratan.[4]

Panjang gelombang detektor yang dipilih adalah 215 nm yang merupakan panjang gelombang yang umum untuk penentuan senyawa organik karena pada panjang gelombang yang lain terjadi perbedaan absorptivitas molar yang jauh antara parasetamol dan ibuprofen sehingga tidak memberikan absorptivitas yang sebanding. Pada panjang gelombang 215 nm, kedua senyawa memberikan absorptivitas molar yang sama besar sehingga dalam penentuan kadar dapat dilakukan secara bersamaan dalam satu kali penyuntikan selain itu di perdagangan perbandingan kadar parasetamol dan ibuprofen tidak berbeda jauh yaitu 325 mg berbanding 200 mg.

Kurva kalibrasi parasetamol yang ditentukan dengan metode KCKT menunjukkan garis yang linier dengan persamaan garis $y = 99480x + 404906$ ($r = 0,9993$). Kurva kalibrasi ibuprofen menunjukkan garis yang linier dengan persamaan garis $y = 116557x - 286518$ ($r = 0,9996$). Batas deteksi dari parasetamol dan ibuprofen berturut-turut adalah 1,30 dan 1,60 $\mu\text{g/mL}$. Batas kuantisasi parasetamol dan ibuprofen berturut-turut adalah 4,30 dan 5,48 $\mu\text{g/mL}$.

Pengujian perolehan kembali memberikan hasil yang baik dengan perolehan kembali parasetamol yaitu 101,07% dengan simpangan baku dan koefisien variasi berturut-turut adalah 0,73 dan 0,74% sedangkan ibuprofen 102,02% dengan simpangan baku dan koefisien variasi berturut-turut adalah 1,56 dan 1,52%.

Validasi metode KCKT menunjukkan hasil yang baik yaitu persen perolehan kembali diantara rentang 95-105 % dan koefisien variasi yang tidak lebih dari 2%.

Pembandingan kadar tablet perdagangan hasil penelitian dengan kadar yang tertera di etiket dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi menunjukkan kadar parasetamol 107,00%, dengan simpangan baku dan koefisien variasi berturut-turut adalah 0,58 dan 0,54% sedangkan ibuprofen 104,76% dengan simpangan baku dan koefisien variasi berturut-turut adalah 0,51 dan 0,48%. Dari perolehan kembali diketahui bahwa tablet dalam perdagangan memenuhi persyaratan kadar 90-110 %.

KESIMPULAN

Metode KCKT dapat digunakan untuk menentukan kadar parasetamol dan ibuprofen dengan fasa gerak asetonitril : dapar fosfat 0,05 M pH 4,5 dengan perbandingan 75 : 25 dengan penambahan natrium heksan sulfonat 0,075%, laju alir 0,5 mL/menit dan panjang gelombang deteksi 215 nm. Waktu retensi parasetamol 4,89 menit dan ibuprofen 7,11 menit.

PUSTAKA

1. Elsayaed, M. A. H., 1976, *J. Pharm. Sci.*, 68, 739.
2. Morelli, B., 1988, *J. Pharm. Sci.*, 77, 1042.
3. Ditjen POM, DepKes RI, 1994, *Farmakope Indonesia*, ed. 4, DepKes RI, Jakarta, 449-450, 649-650.
4. Ibrahim, S., 1998, *Pengembangan Metode Analisis Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*, Seminar HPLC Application for Analysis of Drugs, Food and Environment, Bandung, 13 November 1998, 1-23.
5. Skoog, D.A., Holler, F.J., and Nieman, T.A., 1992, *Principles of Instrumental Analysis*, 5th ed., Saunders College Publ., New York, 1-7, 140-167.
6. Willard, H.H., Merritt Jr., L.L., Dean, J.A. and Settle Jr., F.A., 1988, *Instrumental Method of Analysis*, 7th ed., Wadsworth Publ. Co., Belmont, 159-186.