

VALIDASI METODE ANALISIS DAN PENGUJIAN FORCE DEGRADATION STUDY PADA MEREK DAGANG YANG MENGANDUNG PARACETAMOL

Chresiani Destianita Yoedistira*, Gytha Novella Ongkowijoyo
Program Studi Farmasi, Universitas Ma Chung

*Email: chresiani.destianita@machung.ac.id

Artikel diterima: 24 November 2021; Disetujui: 17 Maret 2022

DOI: <https://doi.org/10.36387/jiis.v7i1.829>

ABSTRAK

Parasetamol merupakan obat yang paling banyak dikonsumsi masyarakat, sehingga perlu dilakukan pemastian mutu secara ketat. Oleh karena itu dilakukan *forced degradation study* menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan berbagai kondisi degradasi yang direkomendasikan oleh *International Council on Harmonisation* (ICH). Penelitian dilakukan pada lima merek obat tablet parasetamol yang diberi perlakuan hidrolisis, oksidasi, *photolytic*, dan *thermal* yang dideteksi spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 243nm. Metode yang dikembangkan divalidasi dengan parameter linieritas, selektivitas, akurasi, presisi, batas deteksi dan kuantifikasi. Hasil yang didapatkan selektif, linier dengan regresi 0,99; akurat dengan %Recovery antara 99,4 - 100,9% dan %CV <2%; dan presisi dengan %RSD <2%; LOD 24,35706967 mg/L; LOQ 79,95750448 mg/L. Lima merek obat yang diuji perlakuan mengalami degradasi hidrolisis, oksidasi, *photolysis*, dan *thermal*. Pada perlakuan basa dan oksidasi hasil degradasi yang didapat tidak memenuhi persyaratan dari Farmakope Indonesia yaitu Indonesia 90% - 110%.

Kata kunci: Parasetamol, *Forced Degradation Study*, Spektrofotometer UV-Vis

ABSTRACT

Paracetamol is the drug most consumed by the public, so it's necessary to carry out strict quality assurance. Therefore, a forced degradation study was carried out using a UV-Vis spectrophotometer with various degradation conditions recommended by ICH. The research was conducted on five brands of paracetamol tablets that were treated with hydrolysis, oxidation, photolytic, and thermal treatment, which were detected by UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 243nm. The developed method is validated with linearity, selectivity, accuracy, precision, detection limit, and quantification parameters. The results obtained are selective, linear with a regression of 0.99; accurate with %Recovery between 99.4 - 100.9% and %CV <2%; and precision with %RSD <2%; LOD 24.35706967 mg/L; LOQ 79.95750448 mg/L. The five brands of drugs tested were subjected to hydrolysis, oxidation, photolysis, and thermal degradation. Under alkaline and oxidizing conditions, it was found that the degradation was beyond the limit of levels, according to the Indonesian

Pharmacopoeia 90% - 110%.

Keywords: *Paracetamol, Forced Degradation Study, UV-Vis spectrophotometer*

PENDAHULUAN

Parasetamol termasuk dalam salah satu obat analgesik dan antipiretik yang paling banyak dikonsumsi masyarakat untuk pengobatan nyeri dan demam. Hal tersebut dikarenakan parasetamol memiliki aktifitas yang mampu menekan fungsi sistem saraf pusat dan memiliki harga yang terjangkau. Parasetamol bekerja dengan menghambat aktivitas prostaglandin endoperoksida sintase, atau siklooksigenase (Bertolini *et al.*, 2006). Dikarenakan banyaknya penggunaan parasetamol di masyarakat maka tidak menutup kemungkinan adanya kesalahan terhadap penyimpanan obat ini. Kesalahan dalam penyimpanan obat dapat menyebabkan produk tersebut mengalami penurunan kualitas dengan adanya proses degradasi.

Produk farmasi rentan mengalami degradasi dalam berbagai bentuk fisik dan kimia serta menghasilkan kotoran yang mempengaruhi kinerja bahan aktif

obat. Oleh karena itu, diperlukan metode untuk melihat bahwa obat mengalami degradasi atau tidak dengan menggunakan metode *force degradation study*. *Forced degradation study* adalah teknik dimana bahan obat akan diberi perlakuan kondisi stres yang berbeda-beda yaitu asam, basa, oksidasi, *photolytic*, dan *thermal* sesuai dengan pedoman ICH (Venkataraman and Manasa, 2018). Pada beberapa penelitian telah melaporkan kromatografi cair kinerja tinggi untuk mendeteksi degradasi dalam parasetamol, tetapi tidak banyak metode spektrofotometer UV-Vis yang digunakan untuk *forced degradation study* (Venkataraman and Manasa, 2018). Teknik spektrofotometer UV-Vis umumnya lebih disukai dikarenakan biaya yang dibutuhkan lebih murah dan proses pengerjaan yang cepat (Naveed *et al.*, 2014). Oleh karena itu, penelitian ini melakukan *forced degradation study* obat parasetamol menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

METODE PENELITIAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah parasetamol p.a, sampel tablet parasetamol dengan beberapa merek yang dibeli dari berbagai apotek, metanol, aquadest, HCl 0,1 M, NaOH 0,1 M, H₂O₂ 3%. Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu spektrofotometer UV-Vis, mortir, labu ukur 100 ml, labu ukur 10 ml, timbangan analitik, pipet, gelas beaker, mikropipet 100-1000µm, mikropipet 20-200µm, lampu 7000 lux, oven.

Preparasi Larutan Standar

20mg parasetamol murni dilarutkan dalam metanol sebanyak 10 ml dan air hingga 100ml, konsentrasi akhir 200mg/L.

Preparasi Sampel

Sebanyak 20 tablet parasetamol dari masing-masing merek ditimbang satu persatu dan digerus hingga menjadi serbuk, Serbuk sampel ini yang akan digunakan untuk pengujian *forced degradation study*.

Validasi Metode Analisis

Linieritas

Linieritas dilakukan sebanyak 10 seri konsentrasi dalam rentang 3-

12 mg/L (3 mg/L, 4 mg/L, 5 mg/L, 6 mg/L, 7 mg/L, 8 mg/L, 9 mg/L, 10 mg/L, 11 mg/L, dan 12 mg/L) . Analisis larutan diukur pada spektrofotometer Uv-Vis, didapatkan nilai absorbansi untuk dibuat persamaan regresi linier $y = bx + a$.

LOD & LOQ

Batas deteksi dan batas kuantitasi untuk parasetamol dapat dihitung dari data linieritas.

Selektivitas

Selektivitas diukur dengan menganalisis larutan blanko, standart, dan sampel dengan kondisi yang sama.

Akurasi

Akurasi dilakukan dengan menggunakan 3 konsentrasi standart yang berbeda yaitu 1,8 mg/L, 2,7 mg/L, 3,6 mg/L untuk masing-masing 30%, 45%, 60% dan konsentasi sampel 6 mg/L. Setiap konsentrasi yang di buat dibuat replikasi sebanyak 3 kali.

Presisi

Presisi dilakukan sebanyak 6 kali replikasi dari tiga konsentrasi yang berbeda. Presisi dilakukan secara *intraday* dan *interday* dengan 3 hari berturut-turut.

Forced Degradation Study

Sebelum Perlakuan

10mg sampel dilarutkan dengan metanol 10% dan air hingga volume 10 ml, sehingga didapatkan konsentrasi 1000 mg/L. Kemudian diambil 0,1 ml dilarutkan dengan air hingga 10 ml, didapatkan konsentrasi 10mg/L. Preparasi ini dilakukan sebanyak 3 kali replikasi dan absobansi diukur menggunakan spektrofotometer Uv-Vis serta dihitung konsentrasi yang didapatkan.

Kondisi Asam

10mg sampel dilarutkan dengan metanol 1 ml dan HCl 0,1M 9 ml hingga volume akhir 10 ml. Larutan didiamkan selama 1, 3, dan 7 hari. Selanjutnya diambil sampel sebanyak 0,1 ml dan dilarutkan dengan air hingga 10 ml didapatkan konsentrasi 10mg/L. Preparasi ini dilakukan sebanyak 3 kali replikasi pada masing-masing hari dan absobansi diukur menggunakan spektrofotometer Uv-Vis serta dihitung konsentrasi yang didapatkan.

Kondisi Basa

10mg sampel dilarutkan dengan metanol 1 ml dan NaOH 0,1M 9 ml hingga volume akhir 10 ml. Larutan

didiamkan selama 1, 3, dan 7 hari. Selanjutnya diambil sampel sebanyak 0,1 ml dan dilarutkan dengan air hingga 10 ml didapatkan konsentrasi 10mg/L. Preparasi ini dilakukan sebanyak 3 kali replikasi pada masing-masing hari dan absobansi diukur menggunakan spektrofotometer Uv-Vis serta dihitung konsentrasi yang didapatkan.

Kondisi Oksidasi

10mg sampel dilarutkan dengan metanol 1 ml dan H₂O₂ 3% 9 ml hingga volume akhir 10 ml. Larutan didiamkan selama 1, 3, dan 7 hari. Selanjutnya diambil sampel sebanyak 0,1 ml dan dilarutkan dengan air hingga 10 ml didapatkan konsentrasi 10mg/L. Preparasi ini dilakukan sebanyak 3 kali replikasi pada masing-masing hari dan diukur menggunakan spektrofotometer Uv-Vis.

Kondisi Photolytic

10mg sampel dilarutkan dengan metanol 1 ml dan air hingga volume 10 ml. Larutan didiamkan dibawah sinar 7000 lux selama 1, 3, dan 7 hari. Selanjutnya diambil sampel sebanyak 0,1 ml dan dilarutkan dengan air hingga 10 ml didapatkan konsentrasi

10mg/L. Preparasi ini dilakukan sebanyak 3 kali replikasi pada masing-masing hari dan absobansi diukur menggunakan spektrofotometer Uv-Vis serta dihitung konsentrasi yang didapatkan.

Kondisi Thermal

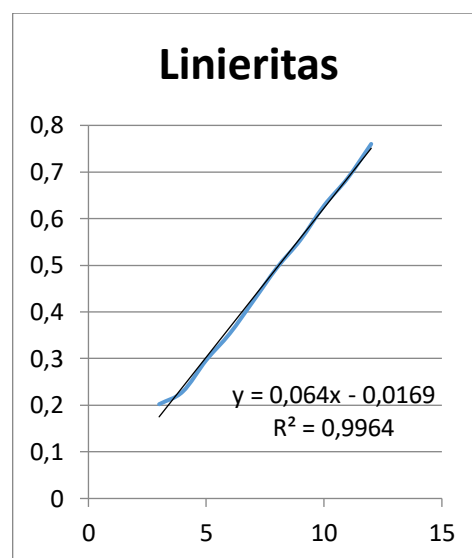
10mg sampel dilarutkan dengan metanol 10% dan air hingga volume 10 ml. Larutan didiamkan dalam oven dengan suhu 60°C selama 1, 3, dan 7 hari. Selanjutnya diambil sampel sebanyak 0,1 ml dan dilarutkan dengan air hingga 10 ml didapatkan konsentrasi 10mg/L. Preparasi ini dilakukan sebanyak 3 kali replikasi pada masing-masing hari dan absobansi diukur menggunakan spektrofotometer Uv-Vis serta dihitung konsentrasi yang didapatkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis bertujuan untuk membuktikan bahwa metode yang digunakan dapat memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004). Panjang gelombang parasetamol yang didapatkan yaitu 243 nm. Linieritas diamati dengan konsentrasi 3-12

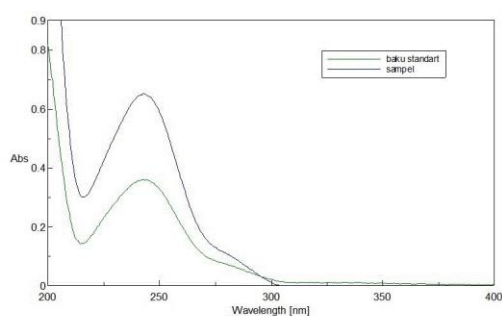
mg/L didapatkan hasil yang linier dengan regresi sebesar 0,9981852299 dengan persamaan $y = -0,0169 + 0,064x$ (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil Linieritas

Hasil parameter LOD dan LOQ yang didapatkan dalam validasi metode paracetamol yaitu 24,35706967 mg/L dan 79,95750448 mg/L. Selektivitas didapatkan selektif dengan mengamati larutan standart dan sampel (Gambar 2). Gambar tersebut menunjukkan persamaan gambaran spektra antara standar paracetamol dan sampel sedangkan blanko tidak menunjukkan gambaran spektra. Parameter Akurasi didapatkan hasil %Recovery antara 99,4 - 100,9% dan %CV <2% yang mengindikasikan metode ini akurat

(Tabel 1). Parameter presisi *intraday* dan *interday* didapatkan hasil %RSD <2% yang menunjukkan metode yang digunakan presisi (Tabel 2).



Gambar 2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Paracetamol

Tabel 1. Hasil Akurasi

Level Konsentrasi	% Recovery	Rata-rata % Recovery	SD	% CV
30%	99,42% 100,98% 100,37%	100,26%	0,788	0,786%
45%	100,78% 99,68% 100,60%	100,35%	0,591	0,589%
60%	100,02% 99,94% 100,46%	100,14%	0,279	0,279%

Tabel 2. Hasil Presisi

Konsentrasi (mg/L)	Intraday (Rata-rata %Kadar, SD, %RSD) n=6	Interday (Rata-rata %Kadar, SD, %RSD) n=6		
		Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3
7,8	106,01%; 1,18; 1,11	105,7; 1,34; 1,26	108,14; 1,43; 1,32	102,71; 1,37; 1,33
8,7	108,46; 1,21; 1,12	108,21; 1,35; 1,24	108,4; 1,83; 1,69	103,19; 1,45; 1,41
9,6	106,19; 1,31; 1,23	105,92; 1,12; 1,06	108,02; 1,23; 1,14	102,33; 1,36; 1,33

Forced Degradation Study

Degradasi dalam suatu bahan obat akan mempengaruhi suatu mutu produk. Ketidakstabilan kimia dari bahan obat di bawah kondisi asam, basa, oksidasi, *photolytic* dan *thermal* dapat ditemui selama penyimpanan, pembuatan, atau formulasi. Batas kadar yang ditetapkan dalam Farmakope Indonesia yaitu pada tablet parasetamol mengandung 90%-110% dari jumlah yang tertera pada etiket (DepKes, 2020). Semua merek parasetamol terjadi perubahan kadar dari sebelum dan sesudah perlakuan sehingga dapat dikatakan bahwa semua merek parasetamol terjadi degradasi (Tabel 3). Pada kondisi asam merek PCT A, PCT B, dan PCT C terjadi degradasi dengan kadar yang masih didalam batas. Pada kondisi *photolytic* merek PCT B dan PCT E terjadi degradasi dengan kadar yang masih didalam batas. Pada kondisi *thermal* merek PCT C dan PCT D terjadi degradasi dengan kadar yang masih didalam batas. Pada kondisi basa semua merek tablet parasetamol mengalami degradasi dengan ditunjukkan pada gambar grafik yang terlihat adanya

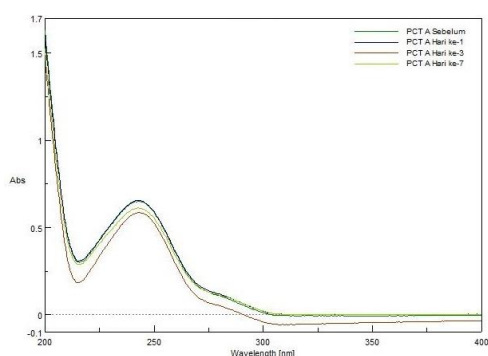
pergeseran panjang gelombang. Hal tersebut dapat dikarenakan adanya pencampuran pelarut dengan NaOH dan adanya substituen pada gugus kromofor, sehingga dapat dikatakan struktur parasetamol berubah menjadi produk yang terdegradasi karena adanya penambahan NaOH. Pada kondisi oksidasi semua merek obat parasetamol dikatakan mengalami

degradasi dikarenakan perubahan grafik dari sebelum dan sesudah perlakuan terjadi perbedaan yang signifikan dan tidak ditemukannya panjang gelombang. Hasil spektrum pada hari ke 1,3 dan 7 memiliki spektrum yang sama pada masing-masing perlakuan kondisi *forced degradation study* (Gambar 3-7).

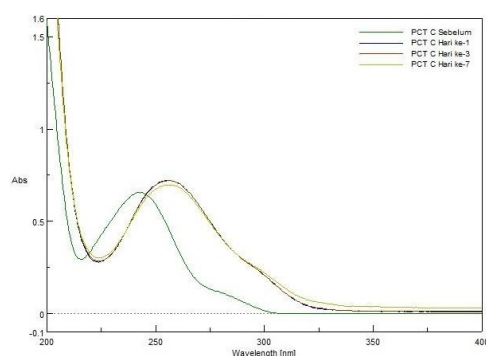
Tabel 3. Hasil %Kadar Forced Degradation Study

Merek	Perlakuan	Hari	Replikasi			Rata-Rata
			1	2	3	
PCT A	Sebelum	0	104,52	102,11	101,47	102,7
	Asam	1	97,52	105,01	98,26	100,26
		3	92,43	94,33	94,23	93,67
		7	98,29	96,72	97,35	97,45
	Basa	1	87,22	99,59	87,68	91,5
		3	76,29	73,58	74,50	74,79
		7	90,96	90,86	92,91	91,58
	Oksidasi	1, 3 & 7	-	-	-	-
	Photolytic	1	107,07	105,22	105,94	106,07
		3	91,55	90,02	90,14	90,57
		7	83,5	85,35	85,47	84,77
	Thermal	1	87,80	94,15	89,45	90,47
		3	102,58	107,51	99,67	103,25
		7	84,39	84,90	86,99	85,43
PCT B	Sebelum	0	103,3	103,86	107,09	104,75
	Asam	1	104,68	109,01	108,55	107,41
		3	93,25	95,52	96,36	95,04
		7	109,91	110,33	110,08	110,11
	Basa	1	96,87	92,37	92,82	94,02
		3	78,66	79,20	78,77	78,88
		7	81,91	86,53	86,42	84,95
	Oksidasi	1, 3 & 7	-	-	-	-
	Photolytic	1	105,69	104,24	103,39	104,44
		3	93,47	91,97	91,58	92,34
		7	105,62	107,51	107,03	106,72
	Thermal	1	128,22	126,78	129,88	128,3
		3	98,69	96,51	96,97	97,39
		7	108,43	112,94	113,64	111,67
PCT C	Sebelum	0	104,9	105,37	105,71	105,33
	Asam	1	104,33	104,47	105,48	104,76
		3	102,45	99,34	101,59	101,13
		7	101,21	99,34	96,67	99,07

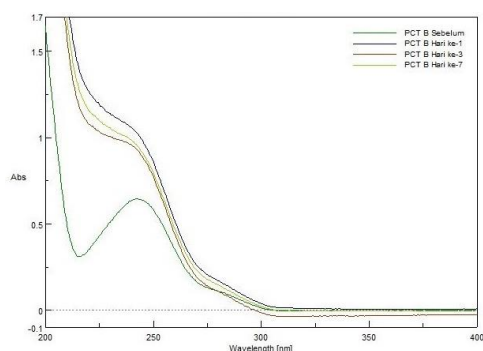
Merek	Perlakuan	Hari	Replikasi			Rata-Rata
			1	2	3	
PCT A	Basa	1	92,55	90,55	95,95	93,02
		3	93,84	95,92	95,66	95,14
		7	93,41	97,27	95,6	95,43
	Oksidasi	1, 3 & 7	-	-	-	-
	Photolytic	1	109,49	110,22	107,96	109,22
		3	123,10	120,82	122,78	122,23
		7	101,18	99,43	101,62	100,75
	Thermal	1	102,74	92,72	98,66	98,04
		3	103,05	102,52	103,69	103,09
		7	93,96	92,56	96,48	94,33
	Sebelum	0	106,08	105,17	106,53	105,93
	Asam	1	109,89	110,63	110,56	110,36
		3	105,74	105,66	104,41	105,27
		7	120,27	121,65	122,05	121,32
	Basa	1	92,13	93,99	92,14	92,75
		3	95,87	96,58	95,39	95,95
		7	80,73	83,2	83,05	82,33
	Oksidasi	1, 3 & 7	-	-	-	-
PCT D	Photolytic	1	116,43	116,89	116,23	116,52
		3	112,80	112,12	112,5	112,47
		7	99,45	95,78	93,84	96,35
	Thermal	1	103,04	104,45	100,89	102,79
		3	108,76	107,87	108,52	108,38
		7	96,92	97,67	98,33	97,64
	Sebelum	0	104,44	105,79	106,05	105,42
	Asam	1	101,94	98,93	99,94	100,27
		3	83,09	89,79	84,32	85,74
		7	88,23	93,76	88,82	90,27
	Basa	1	93,79	94,70	88,85	92,45
		3	72,13	68,45	68,23	69,6
		7	87,41	82,78	81,85	84,01
	Oksidasi	1, 3 & 7	-	-	-	-
	Photolytic	1	96,20	97,88	106,20	100,09
		3	96,49	92,88	91,43	93,60
		7	96,4	94,89	94,28	95,19
	Thermal	1	100,68	107,13	106,20	104,67
		3	129,05	127,95	131,59	129,53
		7	101,18	102,54	100,15	101,29



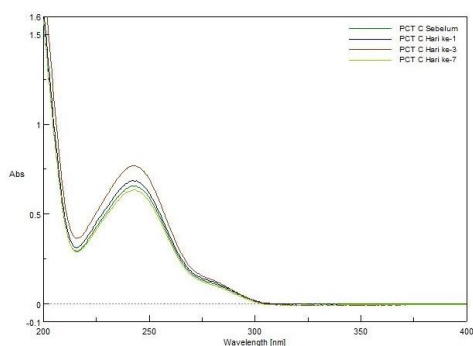
Gambar 3. Spektrum Degradasi Kondisi Asam



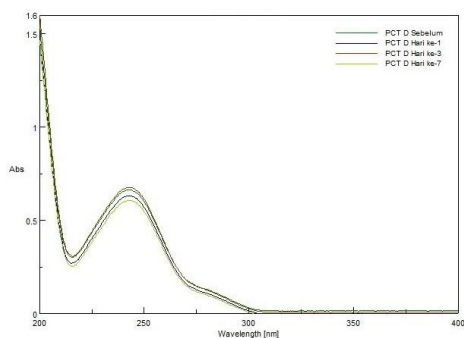
Gambar 4. Spektrum Degradasi Kondisi Basa



Gambar 5. Spektrum Degradasi Kondisi Oksidasi



Gambar 6. Spektrum Degradasi Kondisi *Photolytic*



Gambar 7. Spektrum Degradasi Kondisi *Thermal*

KESIMPULAN

Metode analisis yang dikembangkan untuk parasetamol didapatkan hasil yang sederhana, akurat, presisi, dan selektif terhadap

produk. Forced degradation study didapatkan hasil bahwa kelima merek parasetamol yang diuji mengalami degradasi asam, basa, oksidasi, photolytic dan thermal. Namun, beberapa merek parasetamol dalam kondisi tertentu masih dalam batas kadar yang ditentukan oleh Farmokope Indonesia yaitu parasetamol tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110% dari jumlah yang tertera pada etiket. Kelima merek parasetamol yang diuji mengalami degradasi parah dengan kadar diluar batas yaitu pada kondisi basa dan oksidasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih atas dukungan kerabat dan sahabat Semoga Tuhan Yang Maha Esa selalu melimpahkan rahmat-Nya kepada semua pihak yang membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bertolini, A. *et al.*, 2006, 'Paracetamol: New Vistas of an Old Drug', *CNS Drug Reviews*, 12, 250–275.
- DepKes, 2020, *Farmakope Indonesia Edisi VI*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Jakarta.
- Harmita, 2004, 'Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya', *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1, 117–135.
- Naveed, S., Waheed, N. and Nazeer, S., 2014, 'Degradation Study f Metronidazole in Active and Different Formulation by UV Spectroscopy', *Journal of Bioequivalence & Bioavailability*, 6, 124–127.
- Venkataraman, S. and Manasa, M., 2018, 'Forced degradation studies: Regulatory guidance, characterization of drugs, and their degradation products - a review', *Drug Invention Today*.