
REVIEW: EFEKTIFITAS FASE GERAK PADA KUANTIFIKASI PARASETAMOL DAN KAFEIN SECARA SIMULTAN DENGAN RP-HPLC

(A Review: Effectiveness Mobile Phase In Simultaneous Quantification of Acetaminophen And Caffeine By RP-HPLC)

Siska Rusmalina^{1*}, Kharismatul Khasanah², Afaf³

^{1,2,3} Fakultas Farmasi, Universitas Pekalongan

*Email Penulis Korespondensi: siska_wibowoapt@yahoo.co.id

Email Penulis 2: khaskharisma@gmail.com

Email Penulis 3: afafsunekar5@gmail.com

ABSTRACT

Combination drugs contain at least two types of active substances whose role is to combine therapeutic activities, increasing the potency and action of the drug, so that it can reduce the intensity of pain more quickly, and minimize side effects. Paracetamol and caffeine is a combination drug commonly used in therapy to relieve headaches or migraines, available in various brand names such as Panadol Extra, Paramex, and Saridon. The content of both in pharmaceutical preparations varies with a smaller caffeine concentration in each tablet/caplet/capsule. The problem with analysis using the spectrophotometric method is overlapping spectra, and the HPLC method overcomes this problem. Related articles published in the period 2016 - 2022 discuss both qualitative and quantitative analysis issues. Starting from the diversity of solvents used on samples and the use of mobile phase compositions for elution of compound mixtures which produce several variations in results. Researchers are interested in reviewing articles about the effectiveness of the mobile phase in determining the levels of a combination of paracetamol and caffeine in mixed preparations using the HPLC method. This research is a literature review. Search for articles on Google Scholar, Cochrane central, PubMed.gov databases via the National Library of Medicine and PMC via NCBI access. Some of the keywords used are simultaneous paracetamol and caffeine, HPLC/HPLC, analysis of paracetamol and caffeine levels. Keywords are combined using Indonesian and English using the conjunction "AND/AND". The search strategy was limited to publication years 2016-2022; National journals, national ones with the SINTA index, international journals, and international journals with the SCOPUS index; as well as full text articles. The effective mobile phase for simultaneous analysis of paracetamol and caffeine using the RP-HPLC method from the results of journal reviews in the 2016-2022 period is Methanol: Water (40:60 v/v), at a speed of 0.8-1.0 mL/ minute. These conditions produce separation that is classified as good, with a resolution value of >1.5. Paracetamol retention time 2.6-3.4 minutes. Caffeine in the 3.5-4.1 minute range. The effective time for simultaneous analysis of paracetamol and caffeine is 6.5 minutes.

ABSTRAK

Obat kombinasi mengandung minimal dua macam zat aktif yang berperan mengkombinasikan aktivitas terapeutik, meningkatkan potensi dan aksi obat, sehingga mampu menurunkan intensitas sakit lebih cepat, serta meminimalisir efek samping. Parasetamol dan kafein adalah obat kombinasi yang lazim digunakan pada terapi meredakan sakit kepala atau migrain, tersedia dalam berbagai merek dagang seperti Panadol Extra, paramex, dan saridon. Kandungan keduanya dalam sediaan farmasi bervariasi dengan konsentrasi kafein lebih kecil dalam tiap tablet/kaplet/kapsul. Kendala analisis dengan metode spektrofotometri yaitu overlapping (tumpang tindih) spektra, dan metode HPLC mengatasi permasalahan tersebut. Artikel terkait yang terpublikasi kurun tahun 2016 - 2022 mengupas isu analisis baik kualitatif maupun kuantitatif. Mulai dari keragaman pelarut yang digunakan pada sampel maupun penggunaan komposisi fase gerak untuk elusi campuran senyawa yang menghasilkan beberapa variasi hasil. Peneliti tertarik mereview artikel tentang efektifitas fase gerak pada penetapan kadar kombinasi parasetamol dan kafein sediaan campuran dengan metode HPLC. Penelitian ini merupakan kajian literatur. Penelusuran artikel pada database Google Scholar, Cochrane central, PubMed.gov melalui akses National Library of Medicine dan PMC melalui akses NCBI. Beberapa kata kunci yang digunakan adalah simultan parasetamol dan kafein, HPLC/KCKT, analisis kadar parasetamol dan kafein. Kata kunci dikombinasikan menggunakan Bahasa Indonesia maupun bahasa Inggris menggunakan kata

penghubung “DAN/AND”. Strategi penelusuran dibatasi pada tahun publikasi tahun 2016-2022; Jurnal nasional, nasional berindeks SINTA, jurnal Internasional, dan jurnal Internasional berindeks SCOPUS; serta artikel fulltext. Fase gerak yang efektif pada analisis parasetamol dan kafein secara simultan dengan metode RP-HPLC dari hasil review jurnal pada rentang tahun 2016-2022 adalah Methanol : Air (40:60 v/v), dengan kecepatan 0,8-1,0 mL/menit. Kondisi tersebut menghasilkan pemisahan yang tergolong baik, dengan nilai resolusi >1,5. Waktu retensi parasetamol 2,6-3,4 menit. Kafein pada rentang 3,5-4,1 menit. Waktu efektif untuk menganalisis simultan parasetamol dan kafein yaitu 6,5 menit.

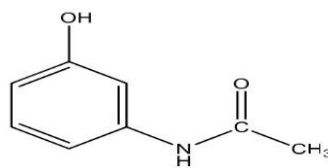
Kata kunci: Efektifitas Fase Gerak; Kuantifikasi Parasetamol dan Kafein; RP HPLC; Simultan.

PENDAHULUAN

Obat kombinasi merupakan sediaan obat yang terdiri dari minimal dua zat aktif. Zat aktif dalam sediaan kombinasi obat berperan mengkombinasikan aktivitas terapeutik, meningkatkan potensi dan aksi obat, sehingga mampu menurunkan intensitas sakit lebih cepat serta meminimalisir efek samping.¹ Parasetamol atau asetaminofen termasuk dalam turunan asetanilida. Parasetamol merupakan obat yang aman dan efektif sebagai analgetik antipiretik, namun memiliki aktivitas sangat lemah sebagai antiinflamasi dan antireumatik.²

Efek analgesik parasetamol diakibatkan oleh daya menghambat enzim siklooksigenase, sehingga prostaglandin yang menstimulasi munculnya rasa sakit tidak diproduksi di otak. Parasetamol memiliki efek samping antara lain mual, hepatotoksisitas, sakit perut, kehilangan nafsu makan, perdarahan gastrointestinal, iskemik, stroke, urin berwarna gelap, hingga peningkatan tekanan darah sistolik.³

Parasetamol mengandung 98% dan tidak lebih dari 101% $C_8H_9NO_2$ dihitung terhadap zat anhidrat. Pemerian parasetamol yaitu serbuk hablur berwarna putih, tidak berbau dan berasa sedikit pahit, larut dalam air mendidih dan natrium hidroksida 1N, mudah larut dalam etanol. Tablet parasetamol mengandung parasetamol $C_8H_9NO_2$ tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110% dari jumlah yang tertera di etiket.⁴ Rumus struktur parasetamol dapat dilihat pada gambar 1.

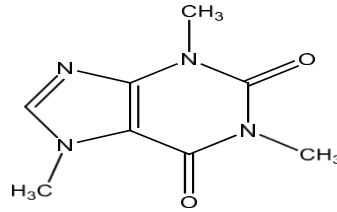


Gambar 1. Rumus Struktur Parasetamol: sumber ⁴

Over dosis parasetamol mengakibatkan nekrosis hepatik dan keracunan lainnya. Demikian penentuan dosis parasetamol dalam sediaan farmasi sangatlah penting.⁵

Kafein termasuk golongan trimetilsantin. Kafein berkhasiat menstimulasi sistem syaraf pusat dengan efek menghilangkan rasa letih, lapar, mengantuk, meningkatkan daya konsentrasi dan kecepatan reaksi otak serta memperbaiki suasana jiwa. Kafein juga memberikan efek memperkuat kontriksi jantung, vasodilatasi dan diuretik.⁶ Kafein memiliki berat molekul sebesar 194,19 atau hidrat dengan mengandung 1 molekul air dengan bobot 212,21. Kandungan kafein tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101% $C_8H_{10}N_4O_2$ dihitung terhadap zat anhidrat. Bentuk serbuk putih atau

jarum mengkilat putih, biasanya menggumpal, tidak berbau dan berasa pahit, larut dalam 60 bagian air, 2 bagian air panas, 130 bagian etanol dan 7 bagian kloroform. Tablet kafein mengandung kafein $C_8H_{10}N_4O_2$ tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110% dari jumlah yang tertera di etiket. Gambar struktur kafein dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Rumus Struktur Kafein, Sumber: ⁴

Obat kombinasi parasetamol dan kafein telah lazim digunakan pada terapi meredakan sakit kepala atau migrain. Kombinasi ini digunakan untuk mencapai efek terapi yang lebih baik dan menurunkan toksisitas. Sediaan kombinasi paracetamol dan kafein tersedia dalam berbagai merek dagang diantaranya Panadol Extra, paramex, dan saridon. Kandungan keduanya dalam sediaan farmasi bervariasi dengan konsentrasi kafein lebih kecil dalam tiap tablet/kaplet. Kedua zat aktif ini memiliki nilai absorpsi maksimum pada Panjang gelombang yang berdekatan. Hal ini mengakibatkan sulit dianalisis dengan metode spektrofotometri karena terjadi overlapping (tumpang tindih) spektra. Metode analisis yang direkomendasikan untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) atau High Performance Liquid Chromatography (HPLC) yang dapat memberikan sensitifitas dan spesifitas yang tinggi.⁷

Ketepatan dalam memilih metode analisis adalah hal yang penting, karena metode analisis sebagai salah satu kontrol kesesuaian kandungan dan konsentrasi zat aktif dengan yang tertera pada etiket. Selain itu, pengawasan mutu terhadap sediaan kombinasi perlu dilakukan, agar obat yang beredar terjamin keamanan dan khasiatnya.⁸

Keragaman artikel-artikel yang terpublikasi 5 tahun terakhir dengan kajian analisis kualitatif maupun kuantitatif. Mulai dari keragaman pelarut yang digunakan, bentuk sediaan sampel, dan penggunaan fase gerak untuk elusi campuran senyawa yang menghasilkan beberapa variasi hasil. Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti tertarik mereview artikel-artikel guna mengetahui efektifitas fase gerak pada penetapan kadar kombinasi parasetamol dan kafein secara simultan dengan metode HPLC.

METODE PENELITIAN

Penyusunan artikel review ini menggunakan metode literature review dari beberapa jurnal berlevel nasional dan internasional dalam periode waktu tertentu. Jurnal dipublikasikan pada database elektronik yaitu google scholar, Cochrane central, PubMed.gov melalui akses National Library of Medicine dan PMC melalui akses NCBI. Penelusuran didatabase digunakan beberapa model kata kunci yang sama, antara lain:

- a) *Validation simultaneous acetaminophen and caffeine*

-
- b) Penetapan kadar kombinasi parasetamol dan kafein
 - c) HPLC / KCKT / RP-HPLC / *Reverse phase of High Performance Liquid Chromatography*
 - d) KCKT Fase terbalik
 - e) Analisis kadar campuran parasetamol dan kafein.

Kata kunci tersebut dikombinasi dengan baik menggunakan bahasa Indonesia maupun bahasa Inggris dengan menggunakan kata penghubung "DAN/AND".

Strategi penelusuran dibatasi dengan menggunakan beberapa filter antara lain:

- a) Tahun publikasi antara tahun 2016 – 2022;
- b) Dipilih jenis jurnal Nasional, nasional berindeks SINTA, jurnal Internasional, dan jurnal Internasional berindeks SCOPUS;
- c) Pemilihan jenis fulltext; dan
- d) Berbahasa Inggris dan Indonesia.

Jurnal hasil penelusuran dipisahkan berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi jurnal sebagai berikut:

- a) Penetapan kadar kombinasi obat parasetamol dan kafein
- b) Validasi metode penetapan simultan parasetamol, dan kafein.
- c) Metode yang digunakan adalah Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) fase terbalik atau High performance liquid chromatography (HPLC) fase terbalik.
- d) Bentuk sediaan tablet atau kaplet atau kapsul

Adapun kriteria eksklusi sebagai berikut:

- a) Campuran obat selain parasetamol dan kafein,
- b) Jurnal yang berbahasa di luar bahasa Inggris dan bahasa Indonesia,
- c) Artikel yang berisi kumpulan abstrak saja,
- d) Metode analisis selain HPLC/KCKT,
- e) Artikel tidak terduplikasi pada publikasi di database yang digunakan, dan
- f) Artikel penetapan kadar parasetamol dan kafein dalam sediaan biologis

Pendekatan Metode "PICO" digunakan dalam penelitian ini untuk merumuskan masalah. Outcome yang diteliti membahas hasil dari parameter sistem HPLC pada penetapan kadar simultan parasetamol dan kafein dalam sediaan tablet dengan metode HPLC fase terbalik. Artikel secara menyeluruh berbahasa Indonesia dan Berbahasa Inggris, bersifat open akses serta dapat diunduh. Parameter yang dikaji meliputi jenis fase gerak dan kecepatan alir terhadap waktu retensi (tR), dan daya resolusi (R) senyawa parasetamol & kafein.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada pencarian pertama sumber artikel pada database elektronik dengan rentang waktu 2016-2022, teridentifikasi lebih dari 70. Jurnal hasil penelusuran tidak semua berisi tentang identifikasi simultan parasetamol dan kafein dengan metode RP-HPLC, namun terdapat juga jurnal yang berisi tentang identifikasi parasetamol dan kafein dengan senyawa obat lain, selain itu juga terdapat dalam sampel biologis. Jurnal selanjutnya diekstrak berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Ada 8 jurnal

yang sesuai untuk direview yang sesuai dengan kriteria inklusi yaitu penetapan kadar secara simultan tablet kombinasi parasetamol dan kafein dengan metode RP-HPLC dalam sediaan tablet atau kaplet. Obat kombinasi parasetamol dan kafein dalam sediaan farmasi dapat dianalisis dengan metode HPLC secara simultan. Prinsip analisis dari metode HPLC yaitu pemisahan senyawa berdasarkan sifat kepolaran fase gerak yang membawa senyawa campuran melewati fase diam.⁹ Kekuatan interaksi yang berbeda tiap senyawa terhadap fase diam berdampak pada terjadinya perbedaan waktu perpindahan dari tiap senyawa campuran.⁹

Hasil analisis 8 sumber artikel review meliputi jenis penelitian, Sistem HPLC, waktu retensi, dan resolusi pada analisis simultan tablet kombinasi parasetamol dan kafein dirangkum pada tabel 1.

Sistem HPLC merupakan serangkaian kondisi analisis dari suatu senyawa dengan metode HPLC guna menghasilkan waktu analisis yang efektif, dan daya pisah yang tinggi sebagai tolak ukur hasil analisis HPLC. Sistem HPLC meliputi jenis detektor, panjang gelombang, jenis kolom, fase gerak, kecepatan alir, dan Teknik elusi.¹⁰

A. Jenis Detektor

Jenis detektor yang digunakan dalam penelitian di kedelapan jurnal yang direview yaitu Ultra Violet (UV) dan Photo Diode Array (PDA). Dua jenis detektor ini tergolong dalam jenis detektor yang paling sering digunakan pada analisis dengan metode HPLC. Persentase jurnal review yang menggunakan detektor PDA sebesar 62,5%, dan Detektor Ultra Violet sebesar 37,5%. Detektor UV merupakan jenis detektor yang umum digunakan, sedangkan detektor PDA adalah detektor UV-Vis yang secara

Tabel 1. Data Sistem HPLC, Waktu Retensi, dan Resolusi dari review artikel analisis simultan tablet kombinasi Parasetamol dan Kafein

Sumber pustaka	Jenis penelitian	Sistem HPLC			tR (menit)		Resolusi	
		Detektor	Fase Diam (kolom)	Fase Gerak	Kecepatan Alir	PCT		KFN
M. Radi et al., (2016), Validation of a Method for Simultaneous Determination of Acetaminophen and Caffeine by HPLC in Different Pharmaceutical Forms: Tablet, Capsule and Sachet. ¹¹	Eksperimental	PDA λ_{max} 275	Symmetry RP18 Column, 150 mm x 4.6 mm, 3.5 μ m.	Methanol : Distilled water (30 : 70 v/v)	1,0 mL/menit	3,47	4,1	>3.5
Emrah A. et al., (2016), Evaluation of pharmaceutical quality of conventional dosage forms containing paracetamol and caffeine available in the Turkish drug market. ¹²	Eksperimental	Ultra Violet λ_{max} 270 nm	ACE 5–C18, 5- μ m LC column (250 x 4.6 mm)	methanol/water (40:60 v/v)	1,0 mL/menit	3,4	4,1	>1,5
Rajan Jena (2017), UPLC Analytical Method Development and Validation for the Simultaneous Estimation of Paracetamol and Caffeine Capsules Dosages Form. ¹³	Eksperimental	PDA detection at (λ_{max}) 275 nm	C18 column (Acquity UPLC ethylene bridge hybrid (BEH) C18 1.7 μ m	water: acetonitrile: H3PO4 (80:20:0.1 v/v/v)	0,5 mL/menit	1,0	1,9	>1,5
Cuervo Escobar et al., (2017), Optimization and Validation of a Simple and Fast RP-HPLC Method for Simultaneous Determination of Acetaminophen and Caffeine In Tablets. ¹⁴	Eksperimental	Diode Array Detector (DAD) λ_{max} 275 nm	Phenomenex (USA) Luna C18 50x4.6 mm and 5 μ m Pada suhu ruangan.	Air : methanol : Asam Asetat glasial (69:28:3 v/v/v),	1,5 mL/menit	3,0	4,5	> 9
Nofita et al. (2018), Penetapan Kondisi Optimum Nofita et al. (2018), Penetapan Kondisi Optimum Pengujian Kadar	Eksperimental	PDA (Photo diode	Pesrsuit agilent C18 (125 x 4mm, 5 μ m)	Asetonitril : Air (10 : 90 v/v)	1,0 mL/menit	3,5	6,4	>2

Parasetamol Dan Kafein Dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. ¹⁵		array), λ _{max} 270 nm							
Aminu et al., (2019), A Simple Stability-Indicating HPLC Method for Simultaneous Analysis of Paracetamol and Caffeine and Its Application to Determinations in Fixed-Dose Combination Tablet Dosage Form. ¹⁶	Eksperi men tal	Ultra Violet λ _{max} 264nm	Waters Symmetry® C18 (5 μm, 4.6 × 150 mm) (Ireland), suhu kolom 35°C	Methanol : Air (40:60, v/v)	0,8 mL/menit	2.6±0. 001	3.5± 0.00 2	4,73	
Sarmiento et al., (2020), Penetapan kadar parasetamol dan kafein dengan metode HPLC. ¹⁷	Eksperi men tal	Ultra Violet λ _{max} 275nm	Kolom C18, (4,6 mm x 100 mm), suhu kolom 45±1°C	Methanol : asam asetat glacial : aquadest (28 : 3 : 69 v/v/v)	2,0 mL/menit	-	-	-	
Wasim Ahmad 2023, A Simple Stability-Indicating UPLC Method for the Concurrent Assessment of Paracetamol and Caffeine in Pharmaceutical Formulations. ¹⁸	Eksperi men tal	PDA λ _{max} 272.5 nm.	Acquity UPLC® CSH™ C18 column,	Methanol : water (30:70, v/v)	0.2 mL/min,	0,82	1,16	>1,5	

simultan mampu memberikan data kumpulan kromatogram pada panjang gelombang berbeda dalam sekali proses (*single run*).

Keuntungan lain dari detektor PDA yaitu dapat memberikan lebih banyak informasi mengenai komposisi sampel, dan spektrum UV tiap puncak yang terpisah sebagai informasi uji kemurnian puncak. Spektrum yang dihasilkan dapat ditampilkan dalam plot tiga dimensi absorbansi, panjang gelombang, dan waktu.⁹

B. Panjang Gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dalam analisis perlu dilakukan dengan pertimbangan bahwa panjang gelombang suatu senyawa dapat mengalami perbedaan jika dianalisis dengan alat dan kondisi yang berbeda.¹⁹ Penentuan panjang gelombang yang dilakukan diawal sebagai Langkah verifikasi panjang gelombang dari larutan standar yang akan diujikan sesuai dengan kondisi penelitian.

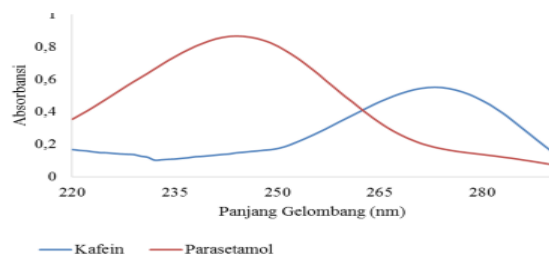
Parasetamol secara teori memiliki panjang gelombang maksimum 244 nm, dan kafein sebesar 273 nm.⁴ Panjang gelombang parasetamol dan kafein dapat mengalami pergeseran akibat dari gugus auksokrom yang terikat pada gugus kromofor. Hal ini berdampak pada pergeseran batokromik yaitu pergeseran panjang gelombang kearah yang lebih besar, selain itu juga akan mengalami pergeseran hiperkromik yaitu pergeseran intensitas ke arah yang lebih tinggi.²⁰ Penentuan panjang gelombang pada analisis simultan senyawa campuran, ditentukan panjang gelombang maksimum kedua campuran zat yang tidak berdempetan.²¹

Hasil *scanning* panjang gelombang optimum kombinasi parasetamol dan kafein dari seluruh jurnal review dengan detektor UV atau PDA berapa pada rentang 264-275 nm. Hasil Panjang gelombang optimum terkecil 264 merupakan hasil dari penelitian Amin et al.²² Empat jurnal dengan panjang gelombang optimum 275 nm.^{11,13,14,17} Dua jurnal dengan panjang gelombang 270 nm,¹⁵ dan 1 jurnal pada panjang gelombang 272,5 nm.²³ Berdasarkan panjang gelombang dari jurnal review, maka dapat ditarik kesimpulan, panjang gelombang optimum kombinasi parasetamol dan kafein adalah 270 ± 5 nm.

Aspek yang dapat mempengaruhi perbedaan hasil penentuan panjang gelombang adalah jenis pelarut yang digunakan dalam melarutkan kombinasi baku parasetamol dan kafein. Penelitian Aminu et al.¹⁶ Pelarut yang digunakan yaitu fase gerak Methanol : Air (40:60 v/v), sedangkan artikel Sarmento et al,¹⁷ pelarut yang digunakan campuran Methanol : asam asetat glacial : aquadest (28 : 3 : 69 v/v/v). Hal ini menunjukkan bahwa adanya penambahan asam asetat glasial mampu meningkatkan absorbansi, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang atau pergeseran batokromik yang disertai dengan peningkatan intensitas (hiperkromik). Penambahan pelarut asam asetat akan menghasilkan gugus auksokrom yang terikat pada gugus kromofor, sehingga akan mengakibatkan pergeseran ke derivat gelombang. Gugus auksokrom pada kromofor akan menyebabkan pergeseran absorbansi ke derivat gelombang maksimum dengan efek hiperkromik dan sebaliknya, serta efek batokromik atau pergeseran merah.

Hasil *scanning* Panjang gelombang parasetamol dan kafein hasil penelitian dari Ade Irna Novita Sari, dan Kuntar,²¹ dengan menggunakan instrumen Hitachi UH5300 spektrofotometer UV-Vis Double Beam, pelarut methanol dan aquadet (1,5 : 8,5), pembacaan dilakukan pada rentang panjang

gelombang 200-300 nm (gambar 3). Parasetamol memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 244 nm dengan absorbansi 0,868 dan kafein 273 nm dengan absorbansi 0,553. ²¹



Gambar 3. Spektra *scanning* panjang gelombang parasetamol dan kafein. ²¹

Menurut Tulandi, ²⁰ Penggunaan methanol sebagai fase gerak dan pelarut, karena sifat parasetamol yang larut dalam methanol. Keistimewaan methanol sebagai pelarut dalam analisis parasetamol yaitu tidak mengganggu spektrum serapan parasetamol. Hal ini diakibatkan methanol tidak memiliki serapan pada panjang gelombang dibawah 210 nm, sehingga hanya meneruskan atau tidak akan menyerap sinar dengan panjang gelombang diatas 210 nm.

C. Fase Diam (Kolom)

Fase diam atau kolom merupakan bagian terpenting dalam instrument HPLC karena proses pemisahan komponen senyawa terjadi. Kolom berisi fase diam C18 yang bersifat non polar dengan merek berbeda dipilih oleh seluruh peneliti dari jurnal direview (tabel 1). Panjang kolom yang digunakan diantara 50 sampai 250 mm, diameter dalam kolom 4,6 mm, dan ukuran partikel fase diam 3,5 – 5 μm . Fase diam C18 dihasilkan dari reaksi antara silika dengan alkilchlorosilana dimana gugus alkilnya (R) merupakan oktadesil. Fase diam tersebut terikat pada silika (fase pendukung). ¹⁷

Fase diam C18 yang bersifat nonpolar, maka fase gerak yang digunakan bersifat lebih polar, sehingga termasuk dalam mode pemisahan reverse-phase (RP) atau fase terbalik. Mode ini cocok untuk menganalisis senyawa-senyawa yang bersifat polar paracetamol dan kafein. Hal ini menunjukkan bahwa jurnal review telah sesuai dalam memilih fase diam dan mode HPLC.

D. Fase Gerak

Hasil review pada artikel menunjukkan bahwa fase gerak methanol-air dengan komposisi air lebih besar menjadi pilihan dengan persentase sebesar 50% artikel review, 25% dengan fase gerak Methanol : Air : Asam Asetat Glisial; 12,5% artikel dengan fase gerak Acetonitril : Air, dan asetoneitril : Air : H_3PO_4 . Komposisi air yang lebih besar mempertegas sifat fase gerak yang bersifat polar. Hal ini akan berdampak pada senyawa parasetamol terelusi terlebih dahulu dengan waktu retensi lebih pendek dari kafein. Penggunaan asetoneitril, atau methanol bertujuan agar tidak seluruh fase gerak bersifat polar yang berdampak pada waktu retensi senyawa parasetamol tidak memiliki waktu retensi yang sama dengan waktu tempuh fase gerak. Penggunaan acetonitril sebagai komposisi fase gerak memberikan dampak pada pergeseran batokromik. Hal ini terlihat dari hasil nilai panjang gelombang yang meningkat 5nm dibandingkan dengan fase gerak methanol air.

D. Kecepatan Alir dan Teknik Elusi

Keempat artikel review menggunakan teknik elusi yang sama yaitu isokratik. Kecepatan alir dibuat sama dari awal hingga akhir analisis. Kecepatan alir yang dijalankan pada proses pemisahan

parasetamol dan kafein berada pada rentang 0,2-2 mL/menit. Perbedaan fase gerak, dan kecepatan alir berdampak terhadap perubahan waktu retensi. Keuntungan dari kecepatan alir yang semakin besar yaitu waktu retensi yang semakin cepat. Namun kecepatan alir yang tinggi dapat memperpendek usia kolom karena terjadi peningkatan tekanan.

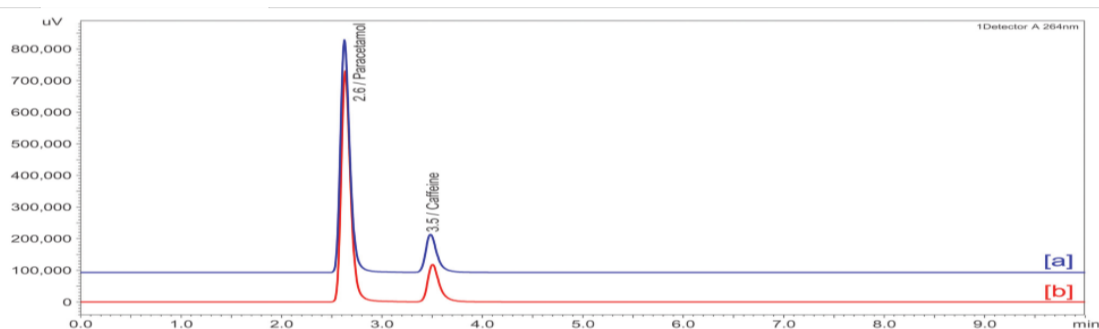
Nofita et al,¹⁵, menyatakan bahwa sistem HPLC yang dikembangkan pada penelitiannya dapat mengefisienkan waktu analisis dari ± 15 menit menjadi ± 6 menit. Daya pisah antara senyawa parasetamol dan kafein memenuhi persyaratan dengan nilai resolusi (R) $> 1,5$ yang mencerminkan bahwa puncak senyawa campuran yang dianalisis terpisah sempurna.

E. Analisis Hasil

Menurut Amin et al,²² beberapa faktor yang mempengaruhi hasil pemisahan yaitu pengaturan komposisi fase gerak, laju alir, dan adanya penambahan asam.

Data sistem HPLC, waktu retensi, dan resolusi dari review artikel analisis parasetamol dan kafein (tabel 1) mencerminkan bahwa pelarut atau fase gerak yang efektif dalam analisis simultan parasetamol dan kafein adalah Methanol : Air, fase gerak ini digunakan 50% dalam penelitian artikel review, dengan 2 perbandingan yaitu pertama perbandingan 30 : 70, kecepatan alir 1 mL/menit¹¹ dan 0,2 mL/menit.²³ Perbandingan kedua 40 : 60, kecepatan alir 1 mL/menit¹² dan 0,8 mL/menit.¹⁶

Berdasarkan pada data penelitian dari Emrah et al (2016),¹² dan penelitian Aminu et al., (2019)¹⁶, maka fase gerak yang efektif pada analisis simultan parasetamol dan kafein dalam sediaan tablet/kaplet/capsul yaitu methanol : Air dengan perbandingan 40:60, v/v, dengan kecepatan alir 0,8 sampai 1 mL/menit. Komposisi fase gerak ini akan menghasilkan waktu retensi parasetamol dalam rentang 2,6-3,4 menit. Kafein pada rentang 3,5-4,1 menit. Waktu efektif untuk menganalisis simultan parasetamol dan kafein yaitu 6,5 menit. Pada kondisi fase gerak tersebut parasetamol dan Kafein mampu memisah dengan baik. Hal ini ditandai dengan nilai resolusi yang melebihi dari yang dipersyaratkan yaitu $> 1,5$.⁹. Adapun kromatogram analisis hasil penelitian Aminu et al., (2019)¹⁶ dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Kromatogram parasetamol dan kafein dengan fase gerak Methanol : Air (40:60, v/v) kecepatan alir 0,8 mL/menit (Sumber: ¹⁶)

KESIMPULAN

Fase gerak yang efektif pada analisis parasetamol dan kafein secara simultan dengan metode RP-HPLC dari hasil review jurnal pada rentang tahun 2016-2022 adalah Methanol : Air (40:60 v/v), dengan kecepatan 0,8-1,0 mL/menit. Kondisi tersebut menghasilkan pemisahan yang tergolong baik, dengan

nilai daya >1,5. Waktu retensi parasetamol 2,6-3,4 menit. Kafein pada rentang 3,5-4,1 menit. Waktu efektif untuk menganalisis simultan parasetamol dan kafein yaitu 6,5 menit.

DAFTAR PUSTAKA

1. Yulyarti E, Rifai Y, Yulianty R. *Penetapan Kadar Paracetamol, Kafein, Dan Propifenazon Secara Simultan Dalam Sediaan Tablet Dengan Metode KCKT*. DOI: 10.20956
2. Hidayat AP et al. *Perbedaan Antara Parasetamol Dan Ketorolak Terhadap Kadar Substansi P Serum Tikus Wistar Sebagai Analgesik*. 2017
3. McCrae JC et al. Long-Term Adverse Effects of Paracetamol – a Review. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2018; 84(10):2218–2230
4. DepKes RI. *Farmakope Indonesia*. VI. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI. 2020
5. Aryasa IWT et al. Penentuan Kadar Parasetamol Pada Obat Dan Jamu Tradisional Metode Spektrofotometri Uv/Vis. *J MedSains-Maret*. 2018; 2(1):48–53
6. Tan HT, Kirana Rahardja. *Obat-Obat Penting*. VII. Jakarta: PT ELEX MEDIA KOMPUTINDO. 2022
7. Muslimah RN, Kusmiati M. *Penetapan Kadar Parasetamol Dan Kafein Dalam Tablet Kombinasi Dengan Metode KCKT*. Bandung. 2015
8. Tambunan IJ, Putra EDL, Sinaga SM. Modifikasi Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Pada Analisis Parasetamol, Propifenazon Dan Kafein Dalam Sediaan Farmasi. Sumatra Utara: Universitas Sumatra Utara. 2021
9. Rohman A. *Analisis Farmasi Dengan Kromatografi Cair*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. 2020
10. Rosydiati R, Kamelia Saleh E. Karakterisasi Puncak Kromatogram Dalam High Liquid Chromatography (HPLC) Terhadap Fase Gerak, Laju Alir, Dan Penambahan Asam Dalam Indole Acetic Acid (IAA) (Characterization of Peak Chromatogram In HPLC Influenced By Differences of Mobile Phase, Flow Rate, And Addition of Acid In Analysis of Indole Acetic Acid (IAA)). *Kandaga*. 2019; 1(2):66–73
11. Jabbar Radi M et al. Validation of a Method for Simultaneous Determination of Acetaminophen and Caffeine by HPLC in Different Pharmaceutical Forms: Tablet, Capsule and Sachet. *Article in Journal of Materials and Environmental Sciences*. 2016; 7(12):4608–4613
12. Akgeyik E et al. Evaluation of Pharmaceutical Quality of Conventional Dosage Forms Containing Paracetamol and Caffeine Available in the Turkish Drug Market. *Dissolut Technol*. 2016; 23(2):36–41
13. Ranjan Jena B, Babu SM, Pradhan DP, Swain S. UPLC Analytical Method Development and Validation for the Simultaneous Estimation of Paracetamol and Caffeine Capsules Dosages Form. *Pharm Regul Aff*. 2017; 06(01):1–9

-
14. Cuervo Escobar S, Rivera Cubides L, Peña Pérez C. Optimization and Validation of a Simple and Fast RP-HPLC Method for Simultaneous Determination of Acetaminophen and Caffeine In Tablets. *Indian J Pharm Sci.* 2017; 79(5):731–739
 15. Nofita N, Dayanti R, Tutik T, Supardi S. *Penetapan Kondisi Optimum Pengujian Kadar Parasetamol Dan Kafein Dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.* 2018. DOI: 10.5614/jskk.2016.1.2.1
 16. Aminu N et al. A Simple Stability-Indicating HPLC Method for Simultaneous Analysis of Paracetamol and Caffeine and Its Application to Determinations in Fixed-Dose Combination Tablet Dosage Form. *Acta Chromatogr.* 2019; 31(2):85–91
 17. Sarmento ZLC, Rangdi OSG, De Sena BMC, Dewi KNM. Penetapan Kadar Parasetamol Dan Kafein Metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Cakra Kimia.* 2020; 8(2):99–104
 18. Amini H, Ahmadiani A, Gazerani P. Determination of Metformin in Human Plasma by High-Performance Liquid Chromatography. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2005; 824(1–2):319–322
 19. Sayuthi MI, Kurniawati P. *Validasi Metode Analisis Dan Penetapan Kadar Parasetamol Dalam Sediaan Tablet Secara Spektrofotometri UV-Visible.* Surabaya: KIMIA FMIPA UNESA. 2017
 20. Tulandi GP, Sudewi S, Lolo WA. *Valisasi Metode Analisis Untuk Penetapan Kadar Parasetamol Dalam Sediaan Tablet Secara Spektrofotometri Ultraviolet.* DOI: <https://doi.org/10.35799/pha.4.2015.10205>
 21. Sari AIN, Kuntari K. Penentuan Kafein Dan Parasetamol Dalam Sediaan Obat Secara Simultan Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *IJCA (Indonesian Journal of Chemical Analysis).* 2019; 2(01):20–27
 22. Amin S, Musadad A, Ibrahim S. *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Analisis Senyawa Diuretik Yang Disalahgunakan Sebagai Dalam Urin.* Bandung. December 2016
 23. Ahmad W et al. A Simple Stability-Indicating UPLC Method for the Concurrent Assessment of Paracetamol and Caffeine in Pharmaceutical Formulations. *Separations.* 2023; 10(50):1–15