



## Validasi Metode Penentuan Tablet Allopurinol Menggunakan Spektrofotometri Ultraviolet dalam Larutan Asam

Suprianto<sup>a,\*</sup>, Ihsanul Hafiz<sup>a</sup>, Hendri Faisal<sup>a</sup>, Hasrat Masa Harefa<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Institut Kesehatan Helvetia, Jl. Kapten Sumarsono No. 107 Medan 20124, Indonesia

\* Corresponding author: [ekahasbi@gmail.com](mailto:ekahasbi@gmail.com)

<https://doi.org/10.14710/jksa.22.2.29-37>

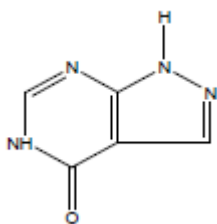
Article Info	Abstract
<p>Article history:</p> <p>Received: 28 August 2018            Revised: 29 January 2019            Accepted: 4 March 2019            Online: 31 March 2019</p> <p>Keywords:            allopurinol;            spectrophotometry;            validation</p>	<p>Title: <b>Validation of Allopurinol Tablet Determination Methods Using Ultraviolet Spectrophotometry in Acid Solution</b></p> <p>Allopurinol as a tablet drug is widely available in the market, hence allopurinol levels must meet the requirements so that the quality of the drug is guaranteed. In this study, validation of the method of determining allopurinol tablet drugs in three HCl concentrations, namely 0.05 N; 0.10 N; and 0.15 N using ultraviolet spectrophotometry has been carried out. Validation parameters included test linearity, accuracy, repetitive precision, and intermediate and specific precision. Determination of content carried out in 0.10 N HCl solution produced the best accuracy. The results showed that the maximum wavelength was at 251 nm where linearity, accuracy, repeated precision and the precision on 0.10 N HCl solvents was 0.9995; 100.1%-100.6%; 0.076%; 0.057% - 0.127% respectively. Specificity tests showed good results. The average content of allopurinol in tablets is 100.7% -102.3% so that the average content of allopurinol in tablets meets the standards that refer to the Indonesian Pharmacopoeia V Edition.</p>
<p>Kata Kunci:            allopurinol;            spektrofotometri; validasi</p>	<p><b>Abstrak</b></p> <p>Allopurinol sebagai obat tablet banyak beredar di pasaran, sehingga kadar allopurinol haruslah memenuhi persyaratan agar kualitas obat dijamin. Pada penelitian ini, validasi metode penentuan obat tablet allopurinol dalam tiga konsentrasi HCl, yaitu 0,05 N; 0,10 N; dan 0,15 N menggunakan spektrofotometri ultraviolet telah dilakukan. Parameter validasi meliputi uji linieritas, akurasi, presisi berulang, dan presisi menengah dan spesifik. Penentuan konten yang dilakukan dalam larutan HCl 0,10 N menghasilkan akurasi terbaik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum adalah pada 251 nm di mana linearitas, akurasi, presisi ulang, presisi pada pelarut HCl 0,10 N masing-masing adalah 0,9995; 100.1% - 100.6%; 0,076%; 0,057% - 0,127%. Tes spesifisitas menunjukkan hasil yang baik. Kandungan rata-rata allopurinol dalam tablet adalah 100,7% -102,3%. Sehingga kandungan rata-rata allopurinol dalam tablet memenuhi standart yang mengacu Indonesian Pharmacopoeia V Edition.</p>

### 1. Pendahuluan

Allopurinol, 1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-ol (Gambar 1) [1], menghambat enzim *xanthine oxidase* secara kompetitif sehingga senyawa guanin dan basa

purin lain tidak dioksidasi menjadi asam urat [2]. Allopurinol cepat diserap dari saluran pencernaan bagian atas dan memiliki paruh plasma sekitar 1 hingga 2 jam, mempunyai harga pKa sekitar 9,4 [3]. Allopurinol sukar

larut dalam air dan etanol, larut dalam larutan alkali dan praktis tidak larut dalam kloroform dan eter [1].



Gambar 1. Struktur Allopurinol [1]

Validasi adalah penilaian terhadap parameter metode pada prosedur penetapan kadar yang digunakan untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan [4, 5]. Validasi meliputi instrumen dan metode. Suatu metode harus divalidasi untuk membuktikan bahwa parameter-parameter mampu mengatasi problem analisis [6–8].

Metode analisis dapat digunakan jika telah dilakukan validasi meskipun metode tersebut telah dipublikasikan [9, 10]. Validasi disesuaikan kondisi dengan laboratorium dan peralatan yang tersedia [4, 6]. Validitas metode meliputi uji akurasi dengan parameter persen perolehan kembali, uji presisi dengan parameter simpangan baku relatif, selektivitas, linieritas dan batas deteksi serta batas kuantitasi [4, 6–8, 11, 12].

Zat aktif sebagai obat sudah banyak dibuat dalam berbagai bentuk sediaan, misalnya tablet [13, 14]. Tablet harus mengandung zat aktif sesuai dengan komposisi [1]. Allopurinol merupakan salah satu obat dalam sediaan tablet [10, 15]. Sediaan obat yang berkualitas menunjang tercapainya efek terapeutik yang diharapkan [6, 16–19]. Kadar merupakan salah satu persyaratan mutu yang harus dipenuhi seperti yang tercantum dalam Farmakope Indonesia [1].

Allopurinol dapat ditentukan kadarnya dengan menggunakan metode titrasi dalam medium bebas air (DMF) menggunakan  $\text{NaOCH}_3$  [2], spektrofotometri ultraviolet pada panjang gelombang 250 nm dengan menggunakan pelarut asam dan pada panjang gelombang 257 nm dengan pelarut basa [10, 15, 20]. Kadar allopurinol ditetapkan secara spektrofotometri ultraviolet dengan pelarut HCl 0,1N dan NaOH 0,05 N [21].

Keuntungan dari metode spektrofotometri ultraviolet adalah pemakaian yang cukup luas, sensitivitas yang tinggi, selektivitas yang tinggi, biaya yang relatif murah, serta mudah digunakan [11, 22–26]. Berdasarkan hal tersebut diatas, penulis tertarik untuk melakukan validasi metode analisis penetapan kadar allopurinol sediaan tablet secara spektrofotometri ultraviolet dalam konsentrasi terbaik pelarut HCl.

## 2. Metode

### 2.1. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan meliputi Spektrofotometer UV-VIS (Agilent 8453), neraca analitik, labu ukur, pipet volum, beaker gelas 1000 mL, mat pipet, erlenmeyer, stamper, mortir, spatula, pipet tetes, kuvet, batang pengaduk dan corong.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian terdiri dari aquades bebas  $\text{CO}_2$ , larutan pereaksi HCl pa (Merck), kertas saring, baku allopurinol (Nanjing Pharma Chemical Plant) dan sediaan tablet allopurinol 100 mg (PT. Hexpharm Jaya dan PT. First Medipharma).

### 2.2. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan purposif. Sampel yang digunakan merupakan sediaan tablet allopurinol 100 mg yang diproduksi oleh PT. Hexpharm Jaya dan PT. First Medipharma [27–29].

### 2.3. Pembuatan Larutan Induk Baku

Ditimbang seksama sejumlah 100 mg baku allopurinol, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditambahkan 10 mL larutan HCl 0,1 N, dikocok. Kemudian diencerkan dengan HCl 0,1 N sampai garis tanda, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000  $\mu\text{g/mL}$ , yang disebut Larutan Induk Baku I (LIB I). LIB I dipipet 10 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, diencerkan dengan HCl 0,1 N sampai garis tanda, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100  $\mu\text{g/mL}$  atau disebut Larutan Induk Baku II (LIB II). Hal yang sama dilakukan pada pelarut HCl 0,05 N dan HCl 0,15 N [1, 30].

### 2.4. Pembuatan Larutan Induk Sampel

Ditimbang dan diserbukkan tidak kurang dari 20 tablet (tablet allopurinol 100 mg). Kemudian ditimbang seksama sejumlah serbuk setara dengan 100 mg allopurinol, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Lalu ditambahkan 10 mL larutan HCl 0,10 N; dikocok dan diencerkan dengan HCl 0,10 N sampai garis tanda, sehingga diperoleh Larutan Induk Sampel I (LIS I). Kemudian disaring dan 10 mL filtrat pertama dibuang. LIS I dipipet 10 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, ditambahkan 10 mL larutan HCl 0,10 N, dikocok, lalu diencerkan dengan HCl 0,10 N sampai garis tanda dan dihomogenkan, sehingga diperoleh Larutan Induk Sampel II (LIS II). Hal yang sama dilakukan pada pelarut HCl 0,05 N dan HCl 0,15 N [1].

### 2.5. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan Induk Baku (LIB) II (100  $\mu\text{g/mL}$ ) dipipet sebanyak 4 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, diencerkan dengan HCl 0,10 N sampai garis tanda, dikocok sampai homogen sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 8  $\mu\text{g/mL}$ , diukur serapannya pada panjang gelombang 200–400. Kemudian dilakukan dengan prosedur yang sama pada pelarut HCl 0,05 N dan HCl 0,15 N [1, 12].

### 2.6. Pembuatan Kurva Kalibrasi

LIB II (100  $\mu\text{g/mL}$ ) dipipet sebanyak 2,0 mL; 3,0 mL; 4,0 mL; 5,0 mL dan 6,0 mL; masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, kemudian ditambahkan HCl 0,10 N sampai garis tanda, dikocok sampai homogen dan diperoleh larutan dengan konsentrasi 4  $\mu\text{g/mL}$ ; 6  $\mu\text{g/mL}$ ; 8  $\mu\text{g/mL}$ ; 10  $\mu\text{g/mL}$ ; dan 12  $\mu\text{g/mL}$ . Kemudian diukur serapan pada panjang gelombang maksimum, sebagai blangko digunakan HCl 0,10 N. Selanjutnya dilakukan dengan prosedur yang sama untuk pelarut HCl 0,05 N dan 0,15 N [1, 12, 31].

### 2.7. Validasi Metode

#### 2.7.1. Linieritas

Koefisien korelasi merupakan indikator linieritas yang menunjukkan proporsionalitas respon absorbansi terhadap konsentrasi yang diukur. Linieritas diukur sebagai koefisien korelasi (R) dengan koefisien determinasi  $R^2$  yang diperoleh dari statistika kurva kalibrasi. Nilai linearitas yang baik adalah  $0,995 \leq r \leq 1$ . Koefisien korelasi dihitung dengan persamaan di bawah ini [4, 6, 8]:

$$R = \frac{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{\sqrt{\{n(\sum X^2) - (\sum X)^2\} \{n(\sum Y^2) - (\sum Y)^2\}}}$$

Di mana X = Konsentrasi baku allopurinol, Y = Absorbansi baku allopurinol, dan n = Ulangan percobaan

### 2.7.2. Batas Deteksi dan Batas Kuantitatif

Batas deteksi, *Limit of Detection* (LOD) sebagai ukuran konsentrasi terkecil senyawa dalam sampel yang dapat dideteksi. Batas kuantitatif, *Limit of Quantitation* (LOQ) sebagai ukuran terkecil senyawa dalam sampel yang dapat diukur kadarnya dengan tingkat ketelitian dan ketepatan yang baik. Batas kuantitatif merupakan parameter uji kuantitatif untuk konsentrasi senyawa terendah dalam matriks. Batas deteksi dan kuantitasi dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi. Batas deteksi dan kuantitasi dihitung dengan persamaan di bawah ini [4]:

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

$$LOD = \frac{3SD}{b}$$

$$LOQ = \frac{10SD}{b}$$

Di mana SD = Standar deviasi,  $\bar{X}$  = Kadar rata-rata yang diperoleh dari percobaan, dan n = Jumlah ulangan percobaan dan b = Slope persamaan regresi dari kurva kalibrasi.

### 2.7.3. Uji Akurasi (Kecermatan)

Akurasi merupakan kemampuan alat memberi respon nilai dekat dengan sebenarnya saat mengukur sampel. Uji akurasi dilakukan dengan metode penambahan baku, yaitu dengan membuat tiga konsentrasi analit sampel dengan rentang spesifik 80%, 100% dan 120%, di mana masing-masing dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) yang ditambahkan dan dapat ditentukan dengan persamaan di bawah ini [4, 6, 8, 10]:

$$\%Recovery = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \times 100\%$$

Di mana C<sub>1</sub> = Konsentrasi senyawa dalam sampel dan standar, C<sub>2</sub> = Konsentrasi senyawa dalam sampel, dan C<sub>3</sub> = Konsentrasi senyawa standar yang ditambahkan.

### 2.7.4. Uji akurasi 80%.

Larutan sampel dari LIS II dipipet sebanyak 5,6 mL dimasukkan ke dalam labu ukur pertama dan ditambahkan larutan baku allopurinol sebanyak 2,4 mL yang dipipet dari LIB II dan dicukupkan dengan pelarut HCl 0,10 N sampai garis tanda 100 mL. Larutan sampel dari LIS II dipipet sebanyak 5,6 mL dimasukkan ke dalam labu ukur kedua dan dicukupkan dengan pelarut HCl 0,10 N sampai garis tanda 100 mL. Larutan sampel dari LIS II dipipet sebanyak 2,4 mL dimasukkan ke dalam labu yang ketiga dan dicukupkan dengan pelarut HCl 0,10 N sampai garis tanda 100 mL dan diukur pada panjang gelombang maksimum.

#### a. Uji akurasi 100%

Larutan sampel dari LIS II dipipet sebanyak 7 mL dimasukkan ke dalam labu ukur pertama dan ditambahkan larutan baku allopurinol sebanyak 3 mL

yang dipipet dari LIB II, kemudian dicukupkan dengan pelarut HCl 0,10 N sampai garis tanda 100 mL.

Larutan sampel dari LIS II dipipet sebanyak 7 mL dimasukkan ke dalam labu ukur kedua dan dicukupkan dengan pelarut HCl 0,10 N sampai garis tanda 100 mL.

Larutan sampel dari LIS II dipipet sebanyak 3 mL ke dalam labu ukur ketiga dan dicukupkan dengan pelarut HCl 0,10 N sampai garis tanda 100 mL dan diukur pada panjang gelombang maksimum.

#### b. Uji akurasi 120%

Larutan sampel dari LIS II sebanyak 8,4 mL dimasukkan ke dalam labu ukur pertama dan ditambahkan larutan baku allopurinol sebanyak 3,6 mL yang dipipet dari LIB II dan dicukupkan dengan pelarut HCl 0,10 N sampai garis tanda 100 mL.

Larutan sampel dari LIS II sebanyak 8,4 mL dimasukkan ke dalam labu ukur kedua dan dicukupkan dengan pelarut HCl 0,10 N sampai garis tanda 100 mL.

Larutan sampel dari LIS II sebanyak 3,6 mL dimasukkan ke dalam labu ukur ketiga dan dicukupkan dengan pelarut HCl 0,10 N sampai garis tanda 100 mL dan diukur pada panjang gelombang maksimum. Uji akurasi dengan menggunakan pelarut HCl 0,05 N dan HCl 0,15 N dilakukan dengan prosedur sama.

### 2.7.5. Uji Presisi (Keseksamaan)

Kesalahan acak analisis dilakukan uji presisi yang dapat digunakan untuk mengevaluasi tingkat kedekatan antara hasil analisis. Uji presisi dapat berupa uji keterulangan [4, 6, 8]. Presisi keterulangan dilakukan sebanyak enam kali oleh seorang analis pada panjang gelombang maksimum. Presisi antara dilakukan sebanyak enam kali pada panjang gelombang maksimum oleh analis yang berbeda. Prosedur yang sama dilakukan pada ketiga konsentrasi pelarut HCl yaitu HCl 0,05 N; 0,10 N; dan 0,15 N [10]. LIB II dipipet 4 mL dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 mL dan dicukupkan dengan HCl sampai garis tanda [1]. Kemudian dilakukan uji presisi yang meliputi presisi keterulangan dan presisi antara [4-6].

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

$$RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$$

Di mana SD = Standar deviasi, RSD = *Relative standard deviation*, dan  $\bar{X}$  = Kadar rata-rata yang diperoleh dari percobaan.

### 2.8. Uji Selektivitas

Perubahan bentuk kurva atau pergeseran panjang gelombang digunakan sebagai indikator uji selektivitas, karena perubahan tersebut dapat terjadi akibat penambahan senyawa yang ada dalam sampel obat sediaan tablet [4, 6]. Uji selektivitas dilakukan dengan cara melihat pergeseran panjang gelombang maksimum pada larutan baku, larutan baku setelah penambahan sampel dan larutan blanko [11].

### 2.9. Penetapan Kadar Allopurinol

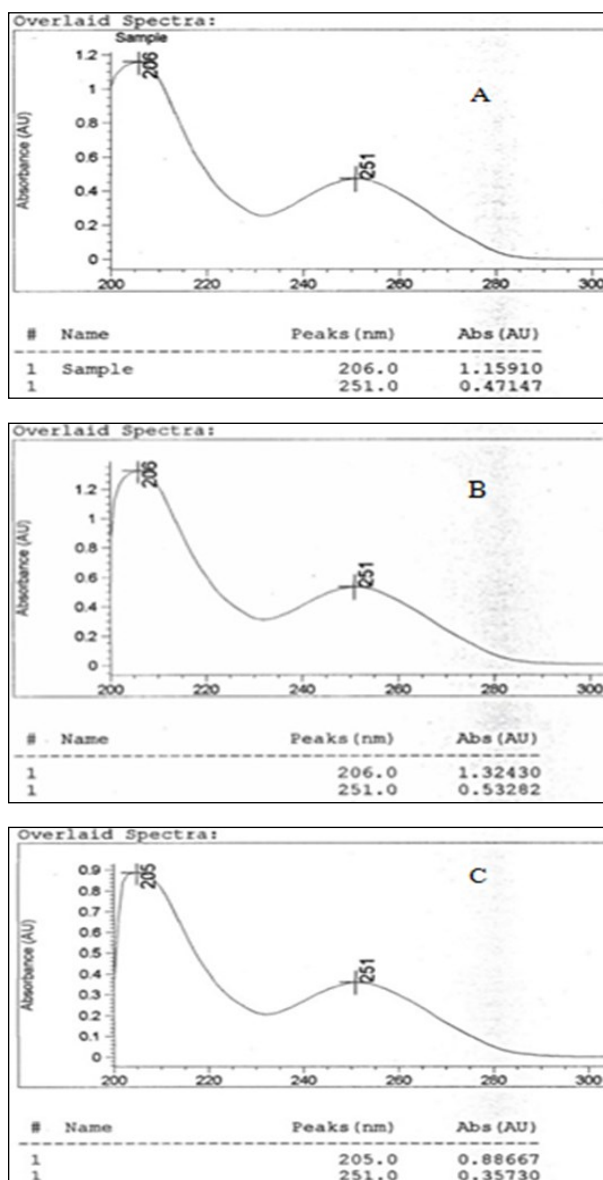
Ditimbang dan diserbukkan tidak kurang dari 20 tablet. Kemudian ditimbang seksama sejumlah serbuk setara dengan 100 mg allopurinol, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Lalu ditambahkan 10 mL larutan HCl 0,10 N, kocok dan diencerkan dengan HCl 0,10 N sampai

garis tanda (LIS I). Kemudian disaring, 10 mL filtrat pertama dibuang. LIS I dipipet 10 mL dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 mL, ditambahkan 10 mL larutan HCl 0,10 N, dikocok, lalu diencerkan dengan HCl 0,10 N sampai garis tanda dan dihomogenkan (LIS II) [1]. LIS II dipipet 4 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan dicukupkan dengan HCl 0,10 N sampai garis tanda, dikocok sampai homogen dan diukur pada panjang gelombang maksimum [31].

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### 3.1. Panjang Gelombang

Penelitian dilakukan dengan tiga konsentrasi pelarut yaitu HCl 0,05 N; 0,1 N dan 0,15 N. Panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Panjang Gelombang Maksimum Allopurinol (A=HCl 0,05 N; B= HCl 0,10 N; C= HCl 0,15 N)

Panjang gelombang maksimum digunakan untuk mendeteksi allopurinol karena perubahan absorbansi paling besar pada panjang gelombang maksimum, sehingga diperoleh kepekaan analisis yang maksimum [11]. Pengukuran dilakukan dengan larutan standar 8 µg/mL, setelah dihitung dengan persamaan hukum Lambert-Beer dengan harga A yang diambil adalah 0,434

karena merupakan harga optimal dalam rentang A: 0,2–0,8; sebab kesalahannya paling kecil [20]. Panjang gelombang maksimum penelitian (251 nm) yang diperoleh relatif sama dengan literatur (250 nm). Gambar 2 menunjukkan bahwa konsentrasi pelarut tidak menyebabkan pergeseran panjang gelombang [10, 11, 20].

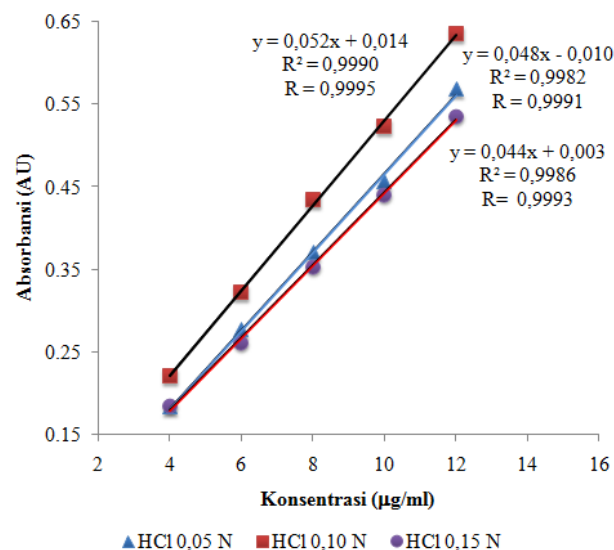
#### 3.2. Kurva Kalibrasi

Pembuatan kurva kalibrasi baku allopurinol dari masing-masing pelarut, yaitu: HCl 0,05 N; 0,01 N dan 0,15 N dengan konsentrasi 4 µg/mL, 6 µg/mL, 8 µg/mL, 10 µg/mL, dan 12 µg/mL; diukur pada panjang gelombang maksimum (251 nm). Data uji dapat dilihat pada Tabel 1, dan kurva kalibrasi dapat dilihat pada Gambar 3.

Tabel 1. Absorbansi Kurva Kalibrasi Allopurinol dalam HCl

No.	Baku	Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi dalam HCl		
			0,05 N	0,10 N	0,15 N
1	Standard 1	4	0,18279	0,22042	0,18548
2	Standard 2	6	0,27677	0,32179	0,26137
3	Standard 3	8	0,37108	0,43468	0,35306
4	Standard 4	10	0,45613	0,52404	0,44035
5	Standard 5	12	0,56904	0,63566	0,53625

Data pengukuran menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi larutan baku allopurinol yang diukur maka semakin besar absorbansi yang diperoleh (Tabel 1) dengan peningkatan yang linier (Gambar 3).



Gambar 3. Kurva Kalibrasi Allopurinol dalam HCl

#### 3.3. Uji Validasi Metode

##### 3.3.1. Linieritas

Linieritas menunjukkan proporsionalitas respon absorbansi terhadap konsentrasi yang diukur pada pengujian sesuai dengan konsentrasi senyawa dalam sampel pada rentang konsentrasi tertentu [4, 6]. Uji dilakukan dengan membuat kurva kalibrasi dari seri larutan senyawa baku yang diketahui konsentrasinya [8].

Koefisien korelasi hasil penelitian sebesar 0,9991 (HCl 0,05 N); 0,9995 (HCl 0,10 N) dan 0,9993 (HCl 0,15 N). Hal ini menunjukkan bahwa penelitian validasi ketiga pelarut memberikan linieritas baik. Suatu metode analisis yang valid mempunyai harga koefisien korelasi lebih dari 0,999 [4, 8].

Koefisien korelasi memberi informasi hubungan antara konsentrasi allopurinol dengan absorbansi yaitu telah memenuhi kriteria linier [8]. Nilai range linier yang diperoleh menunjukkan bahwa dalam kurva kalibrasi tersebut berlaku hukum Lambert-Beer, sehingga persamaan garis tersebut dapat digunakan untuk menentukan kadar parasetamol secara spektrofotometri UV [11].

**3.3.2. Batas Deteksi dan Batas Kuantitatif**

Data hasil uji batas deteksi dan batas kuantitasi dapat dilihat pada Tabel 2. Kurva kalibrasi memenuhi persyaratan analisis [4, 6, 8], selanjutnya data diolah untuk menentukan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ). Harga LOD (Tabel 2) yang diperoleh memberikan informasi bahwa penggunaan pelarut HCl 0,05 N dan 0,15 N kurang sensitif untuk mendeteksi allopurinol dalam sampel dibandingkan pelarut HCl 0,10 N. Pelarut HCl 0,10 N merupakan pelarut yang mempunyai sensitivitas paling tinggi dibandingkan konsentrasi yang lain (Tabel 2). Harga LOD 0,345 µg/mL pada penggunaan pelarut HCl 0,10 N memberikan informasi bahwa pada konsentrasi tersebut merupakan batas terendah dilakukan deteksi sampel. Sedangkan harga LOQ sebesar 1,149 µg/mL pada pelarut HCl 0,10 N merupakan batas konsentrasi terendah yang dapat digunakan untuk penetapan kadar dan masih dapat memberikan kecermatan analisis [4].

**Tabel 2. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi**

Parameter	Konsentrasi HCl		
	0,05 N	0,10 N	0,15 N
B	0,048	0,052	0,044
SD	0,007	0,006	0,006
LOD (µg/mL)	0,468	0,345	0,416
LOQ (µg/mL)	1,560	1,149	1,385

**3.3.3. Akurasi**

Data hasil pengujian persen perolehan kembali allopurinol dengan metode penambahan baku dapat dilihat pada Tabel 3 sampai Tabel 5. Hasil perolehan kembali pada pelarut HCl 0,15 N (Tabel 5) nilai persen perolehan kembali tidak memenuhi syarat karena nilai yang diperoleh tidak berada pada rentang persen perolehan kembali dengan analit 1% (95%–102%) [4, 7]. Sedangkan pada pelarut HCl 0,05 N dan HCl 0,10 N (Tabel 3 dan Tabel 4) memenuhi persyaratan dengan analit 1% (95%–102%) dan persen perolehan kembali pada pelarut HCl 0,10 N terbaik dengan rata-rata sebesar 100,4%.

**Tabel 3. Hasil Perolehan Kembali dalam HCl 0,05N**

Akurasi	Konsentrasi			Recovery (%)	Rata-Rata (%)	Rara-rata (%)
	Sampel + Baku	Sampel	Baku			
80%	9,473	6,085	3,420	99,1	99,7	99,6
	9,488	6,065	3,423	99,9		
	9,475	6,061	3,414	100,0		
100%	10,258	7,212	3,055	99,7	99,6	99,6
	10,260	7,208	3,050	100,0		
	10,252	7,222	3,056	99,2		
120%	12,150	8,510	3,620	99,9	99,8	99,8
	12,121	8,520	3,616	99,0		
	12,150	8,490	3,620	100,4		

**Tabel 4. Hasil Perolehan Kembali dalam HCl 0,10N**

Akurasi	Konsentrasi			Recovery (%)	Rata-Rata (%)	Rara-rata (%)
	Sampel + Baku	Sampel	Baku			
80%	8,113	5,635	2,464	100,6	100,6	100,4
	8,126	5,624	2,465	100,7		
	8,115	5,633	2,468	100,6		
100%	10,107	7,093	2,990	100,8	100,6	100,4
	10,126	7,125	2,989	100,4		
	10,130	7,114	2,993	100,7		
120%	12,132	8,520	3,607	100,1	100,1	100,1
	12,151	8,522	3,627	100,1		
	12,133	8,498	3,634	100,0		

**Tabel 5. Hasil Perolehan Kembali dalam HCl 0,15N**

Akurasi	Konsentrasi			Recovery (%)	Rata-Rata (%)	Rara-rata (%)
	Sampel + Baku	Sampel	Baku			
80%	8,339	5,935	2,417	99,4	98,8	100,6
	8,340	5,951	2,419	98,7		
	8,338	5,966	2,418	98,1		
100%	10,825	7,403	3,216	106,4	106,1	100,6
	10,835	7,403	3,226	106,4		
	10,835	7,409	3,218	106,5		
120%	12,575	8,727	3,969	96,9	97,1	97,1
	12,591	8,723	3,967	97,5		
	12,573	8,730	3,959	97,1		

**3.3.4. Presisi**

Penelitian uji presisi dilakukan dengan dua parameter presisi yaitu presisi keterulangan perlakuan dan presisi antara analisis [4] [4]. Hasil uji presisi keterulangan dapat dilihat pada Tabel 6. Presisi antar analisis dapat dilihat pada Tabel 7 sampai 9.

Presisi diukur sebagai simpangan baku relatif (% RSD) replikasi sampel homogen [4, 6]. Kesalahan acak analisis dilakukan uji presisi yang dapat digunakan untuk mengevaluasi tingkat kedekatan antar hasil analisis [4]. Penelitian menunjukkan presisi keterulangan dan antar analisis dalam tiga konsentrasi pelarut HCl dan nilai presisi antara memenuhi persyaratan % RSD yaitu tidak lebih dari 2 % [4, 8].

**Tabel 6.** Presisi Keterulangan dalam Pelarut HCl

No	Replikasi	Presisi Keterulangan					
		HCl 0,05 N		HCl 0,10 N		HCl 0,15 N	
		Absorbansi (Y)	Konsentrasi (X)	Absorbansi (Y)	Konsentrasi (X)	Absorbansi (Y)	Konsentrasi (X)
1	Ulangan 1	0,38572	8,363	0,42031	7,926	0,35689	8,043
2	Ulangan 2	0,38586	8,367	0,42115	7,942	0,35682	8,041
3	Ulangan 3	0,38575	8,364	0,42076	7,935	0,35672	8,039
4	Ulangan 4	0,38503	8,349	0,42054	7,931	0,35726	8,051
5	Ulangan 5	0,38528	8,354	0,42106	7,941	0,35706	8,047
6	Ulangan 6	0,38541	8,357	0,42092	7,938	0,35698	8,045
	SD		0,007		0,006		0,004
	% RSD		0,084		0,076		0,054

**Tabel 7.** Presisi Antar Analisis dalam HCl 0,05 N

No	Replikasi	Analisis 1		Analisis 2	
		Absorbansi (Y)	Konsentrasi (X)	Absorbansi (Y)	Konsentrasi (X)
1	Ulangan 1	0,38416	8,330	0,38334	8,312
2	Ulangan 2	0,38415	8,330	0,38316	8,310
3	Ulangan 3	0,38500	8,348	0,38343	8,314
4	Ulangan 4	0,38462	8,340	0,38355	8,316
5	Ulangan 5	0,38468	8,341	0,38353	8,316
6	Ulangan 6	0,38446	8,336	0,38339	8,313
	SD		0,007		0,003
	% RSD		0,085		0,037

**Tabel 8.** Presisi Antar Analisis dalam HCl 0,10 N

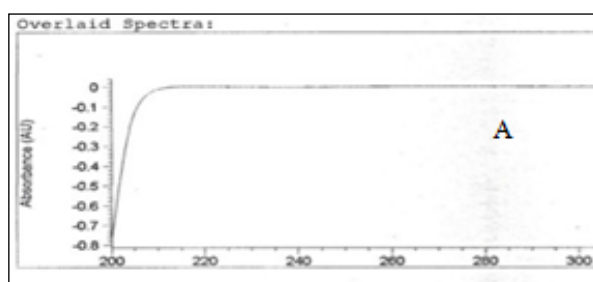
No	Replikasi	Analisis 1		Analisis 2	
		Absorbansi (Y)	Konsentrasi (X)	Absorbansi (Y)	Konsentrasi (X)
1	Ulangan 1	0,42064	7,933	0,38334	8,312
2	Ulangan 2	0,42064	7,933	0,38316	8,310
3	Ulangan 3	0,42016	7,924	0,38343	8,314
4	Ulangan 4	0,42024	7,925	0,38355	8,316
5	Ulangan 5	0,42099	7,939	0,38353	8,316
6	Ulangan 6	0,42161	7,951	0,38339	8,313
	SD		0,010		0,004
	% RSD		0,127		0,057

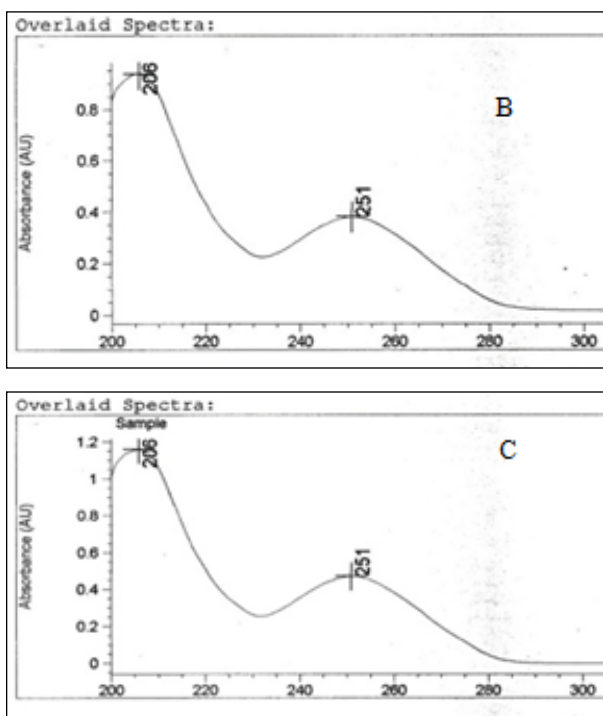
**Tabel 9.** Presisi Antar Analisis dalam HCl 0,15 N

No	Replikasi	Analisis 1		Analisis 2	
		Absorbansi (Y)	Konsentrasi (X)	Absorbansi (Y)	Konsentrasi (X)
1	Ulangan 1	0,35748	8,047	0,35671	8,075
2	Ulangan 2	0,35752	8,048	0,35762	8,095
3	Ulangan 3	0,35716	8,040	0,35716	8,085
4	Ulangan 4	0,35721	8,041	0,35743	8,091
5	Ulangan 5	0,35720	8,041	0,35744	8,091
6	Ulangan 6	0,35714	8,040	0,35734	8,089
	SD		0,004		0,007
	% RSD		0,047		0,089

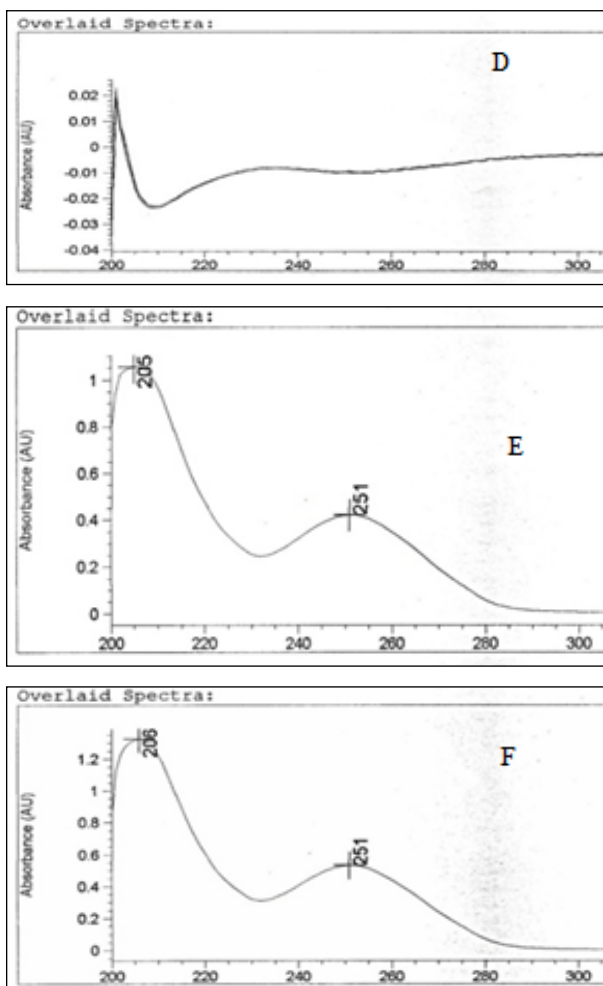
**3.3.5. Selektivitas**

Uji selektivitas dilakukan dengan melihat pergeseran panjang gelombang maksimum allopurinol dalam tiga jenis konsentrasi pelarut (Gambar 4 sampai Gambar 6).

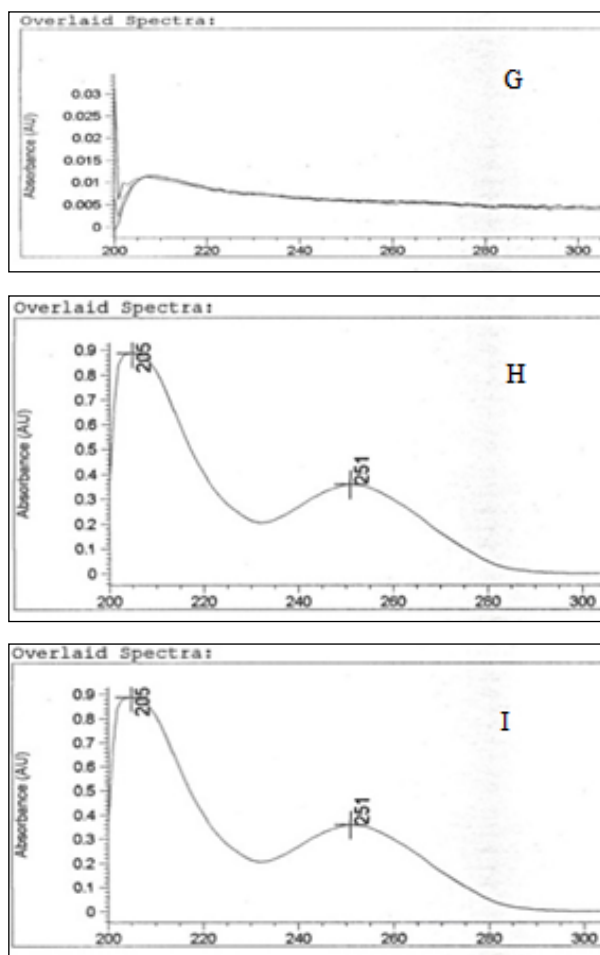




Gambar 3. Selektivitas Larutan (A= Blanko; B=Baku; C= Baku + Sampel) dalam HCl 0,05 N



Gambar 4. Selektivitas Larutan (D= Blanko; E=Baku; F= Baku + Sampel) dalam HCl 0,10 N



Gambar 5. Selektivitas Larutan (G= Blanko; H=Baku; I= Baku + Sampel) dalam HCl 0,15 N

Validasi metode ketiga pelarut HCl 0,05 N; 0,10 N; dan 0,15 N memenuhi persyaratan karena tidak ada pergeseran panjang gelombang, baik pada sampel sebelum maupun setelah penambahan baku allopurinol. Sedangkan pada larutan blanko tidak menunjukkan ada serapan larutan pada panjang gelombang 251 nm. Hal ini membuktikan bahwa pelarut yang digunakan tidak mempengaruhi proses pengukuran larutan sampel maupun baku allopurinol [10].

### 3.4. Penetapan Kadar

Penetapan kadar allopurinol dalam sediaan tablet dilakukan dengan mengukur absorbansi sampel pada panjang gelombang maksimum 251 nm dengan pelarut HCl 0,10 N karena memberikan nilai akurasi, presisi, linieritas dan selektivitas yang terbaik dibandingkan dengan pelarut HCl 0,05 N dan HCl 0,15 N [4, 6, 10]. Hasil penelitian dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10 Hasil Penetapan Kadar Allopurinol dalam Sediaan Tablet

No	Sampel	Absorbansi	Kadar %	Kadar Rata-rata (%)
1	PT. Hexpharm Jaya	0,42807	100,8	100,7
		0,42749	100,6	
		0,42759	100,7	
2	PT. First Medipharma	0,43365	102,0	102,3
		0,43523	102,6	
		0,43448	102,3	

Penelitian menunjukkan bahwa kadar allopurinol dalam sediaan tablet yang diuji berada pada rentang 100,7%-102,3% dinyatakan memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia, yaitu tidak kurang dari 93,0% dan tidak lebih dari 107,0% dari jumlah yang tertera pada etiket [1].

#### 4. Kesimpulan

Panjang gelombang maksimum allopurinol 251 nm pada masing-masing pelarut HCl 0,05 N; 0,10 N dan 0,15 N. Penetapan kadar allopurinol dalam sediaan tablet dengan menggunakan pelarut HCl 0,05 N dan HCl 0,10 N karena hasil uji validasi metode ini menunjukkan nilai akurasi, presisi, linieritas dan spesifisitas yang baik. Penggunaan pelarut HCl 0,10 N menunjukkan bahwa kadar allopurinol dalam sediaan tablet memenuhi persyaratan menurut Farmakope Indonesia Edisi V Tahun 2014 (93,0% - 107,0%) dari jumlah yang tertera pada etiket.

#### Daftar Pustaka

- [1] Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Farmakope Indonesia, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 2017.
- [2] Siegfried Ebel, Mathilda B Widiyanto, H Samhoedi, Obat Sintetik: buku ajar dan buku pegangan, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 1992.
- [3] C.O. Wilson, O. Gisvold, J.N. Delgado, W.A. Remers, Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry, Lippincott-Raven, 1998.
- [4] Harmita Harmita, Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya, *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*, 1, 3, (2004) 117-135 <http://dx.doi.org/10.7454/psr.v1i3.3375>
- [5] Michael W. Dong, Modern HPLC for Practicing Scientists, Wiley, 2016.
- [6] Abdul Rohman, Validasi Penjaminan Mutu Metode Analisis Kimia, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 2018.
- [7] Joseph M. Betz, Paula N. Brown, Mark C. Roman, Accuracy, precision, and reliability of chemical measurements in natural products research, *Fitoterapia*, 82, 1, (2011) 44-52 <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.09.011>
- [8] Suprianto, Pengembangan Metode Penetapan Kadar Campuran Pemanis, Pengawet dan Pewarna secara Simultan dalam Sirup Esen dengan Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, Magister Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan
- [9] G. Indrayanto, Metoda validasi pada analisis dengan kromatografi, *Medika-Jurnal Kedokteran & Farmasi*, 20, 2, (1994) 49-51
- [10] Meta Kartika Sari, Optimasi dan validasi penetapan kadar allopurinol dalam matriks tablet obat secara spektrofotometri UV dan matriks sampel jamu asam urat secara kromatografi cair kinerja tinggi, Program Studi Ilmu Farmasi, Sanata Dharma University, Yogyakarta
- [11] James W. Munson, Analisis farmasi : metode modern, Harjana, Airlangga University Press, Surabaya, 1991.
- [12] Suprianto, Effendy De Lux Putra, Siti Morin Sinaga, Optimization of Volume Void and Wavelengths at Simultaneous Determination Method Development of Sweeteners, Preservatives and Dyes by UFLC, *International Journal of ChemTech Research*, 10, 1, (2017) 89-97
- [13] Howard C. Ansel, Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi, 4th edition ed., Universitas Indonesia (UI Press), Jakarta, 2008.
- [14] H. A. Syamsuni, Ilmu Resep, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 2006.
- [15] Martina Rotua MS, Penetapan Kadar Allopurinol Dalam Omeric Tablet Produksi PT. Mutifa Medan Secara Spektrofotometri Ultraviolet, Program Diploma 3 Analisis Farmasi Dan Makanan, Universitas Sumatera Utara, Medan
- [16] Suprianto Suprianto, Optimasi Formula Matriks Kitosan dengan Metilselulosa pada Pelepasan Terkendali Sediaan Granul Teofilin, *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1, 2, (2017) 114-120
- [17] Suprianto, Formulasi dan Penentuan Orde Pelepasan Teofilin Sediaan Granul Campuran Kitosan dengan Metilselulosa, *Akademia*, 17, 2, (2013) 58-62
- [18] Tan Hoan Tjay, Kirana Rahardja, Obat-obat penting: khasiat, penggunaan dan efek-efek sampingnya, Elex Media Komputindo, 2015.
- [19] Bertram G. Katzung, B.H. Kotualubun, Farmakologi dasar dan klinik, EGC, Jakarta, 1989.
- [20] Eustace George Coverley Clarke, Clarke's Analysis of Drugs and Poisons 2004, Pharmaceutical Press, 2004.
- [21] The Stationery Office, Pharmacopoeia of the People's Republic of China 2015, Stationary Office, 2017.
- [22] Sandra Ayu Apriliyani, Yohanes Martono, Cucun Alep Riyanto, Mutmainah Mutmainah, Kusmita Kusmita, Validation of UV-VIS Spectrophotometric Methods for Determination of Inulin Levels from Lesser Yam (*Dioscorea esculenta* L.), *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 21, 4, (2018) 161-165 <https://doi.org/10.14710/jksa.21.4.161-165>.
- [23] Dachriyanus, Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi, Lembaga Pengembangan Teknologi Infomasi dan Komunikasi, Universitas Andalas, Padang, 2004.
- [24] Ibnu Gholib Gandjar, Abdul Rohman, Kimia Farmasi Analisis, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 2007.
- [25] SM Khopkar, Konsep Dasar Kimia Analitik, UI Press, Jakarta, 1990.
- [26] David Watson, Analisis Farmasi, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 2005.
- [27] M. Toha Anggoro, Metode Penelitian, Universitas Terbuka, Jakarta, 2011.
- [28] Fathnur Sani K, Metodologi Penelitian Farmasi Komunitas dan Eksperimental, Penerbit Deepublish, Yogyakarta, 2016.
- [29] J. Supranto, Teknik Sampling untuk Survei Dan Eksperimen, Penerbit Rineka Cipta, Yogyakarta, 2007.
- [30] Suprianto, Optimization of Mobile Phase for Simultaneous Determination of Sweeteners,



Preservatives and Dyes by UFLC, *International Journal of ChemTech Research*, 11, 1, (2018) 56–63

- [31] Suprianto Suprianto, Analisis Kinetika Pelepasan Teofilin dari Granul Matriks Kitosan, *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 2, 1, (2017) 70–80