



## Aplikasi Metode Pengujian Disolusi Alopurinol secara Spektrofotometri UV-Visible dan Penetapan Kadar Zat Aktifnya secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dalam Sediaan Tablet Alopurinol 100 mg di PT Indofarma Tbk

Fina Nahdiana\*)

Program Studi Analisis Kimia, Politeknik AKA Bogor

\*)Corresponding author: [fina.nahdiana12@gmail.com](mailto:fina.nahdiana12@gmail.com)

(Received: March 17, 2024; Accepted: November 15, 2024)

### Abstrak

Alopurinol, juga dikenal sebagai 1H-Pirazol [3,4-d] pirimidin-4-ol, adalah obat yang umumnya digunakan dalam pengobatan hiperurisemia dan gout. Fungsinya adalah untuk mengurangi tingkat asam urat dalam darah. Penting untuk memeriksa kadar zat aktif dan efektivitas suatu sediaan obat untuk memastikan kualitasnya. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan profil disolusi dan kadar zat aktif alopurinol dalam sediaan tablet alopurinol 100 mg di PT Indofarma Tbk, dan juga untuk mengevaluasi kepatuhan profil disolusi dan kadar zat aktif terhadap standar Farmakope Indonesia. Penelitian menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merek *Hitachi L-7000 series* dan merek *Agilent 1260 Infinity*, Column *L1 Mightysil RP C18 (4 mm × 30 cm) 5 μm*, *dissolution tester* merek *Hanson SR-08* dan spektrofotometer UV-Visible merek *Shimadzu UV-1800*. Metode yang digunakan merupakan metode disolusi dan penetapan kadar rutin alopurinol PT Indofarma Tbk. Hasil penelitian menunjukkan bahwa profil disolusi dalam sediaan sebesar 91,83%-110,36% dan kadar alopurinol dalam sediaan tablet sebesar 98,68%-101,34%, sesuai Farmakope Indonesia Edisi VI, profil disolusi tidak kurang dari 80% dan kadar alopurinol tidak kurang dari 90% dan tidak lebih dari 110%.

**Kata Kunci:** disolusi, kadar, alopurinol, tablet, KCKT

### Abstract

**APPLICATION OF ALOPURINOL DISSOLUTION TESTING METHOD BY UV-VISIBLE SPECTROPHOTOMETRY AND DETERMINATION OF ACTIVE SUBSTANCE CONTENT BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY IN ALOPURINOL 100 MG TABLET PREPARATION AT PT INDOFARMA TBK.** Alopurinol, also known as 1H-Pirazol [3,4-d] pyrimidine-4-ol, is a drug commonly used in the treatment of hyperuricemia and gout. Its function is to reduce the level of uric acid in the blood. It is important to check the levels of active substances and the effectiveness of a drug preparation to ensure its quality. This study aims to determine the dissolution profile and levels of active substances of alopurinol in alopurinol 100 mg tablet preparations at PT Indofarma Tbk, and also to evaluate the compliance of the dissolution profile and levels of active substances with the Indonesian Pharmacopoeia standards. The study used High Performance Liquid Chromatography (HPLC) *Hitachi L-7000 series* and *Agilent 1260 Infinity* brands, Column *L1 Mightysil RP C18 (4 mm × 30 cm) 5 μm*, *dissolution tester* *Hanson*

*SR-08 brand and UV-Visible spectrophotometer Shimadzu UV-1800 brand. The method used is the dissolution method and routine determination of alopurinol levels of PT Indofarma Tbk. The results of the study showed that the dissolution profile in the preparation was 91.83%-110.36% and the alopurinol levels in the tablet preparation were 98.68%-101.34%, according to the Indonesian Pharmacopoeia Edition VI, the dissolution profile is not less than 80% and the alopurinol levels are not less than 90% and not more than 110%.*

**Keywords:** *dissolution, levels, alopurinol, tablets, HPLC*

**How to Cite This Article:** Nahdiana, F. (2024). Aplikasi Metode Pengujian Disolusi Alopurinol secara Spektrofotometri UV-Visible dan Penetapan Kadar Zat Aktifnya secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dalam Sediaan Tablet Alopurinol 100 mg di PT Indofarma Tbk. *Indonesian Journal of Halal*, 7(2), 92-103, DOI: <https://doi.org/10.14710/halal.v7i2.22274>

## PENDAHULUAN

Obat merupakan substansi tunggal atau campuran yang digunakan oleh semua makhluk hidup, baik bagian dalam maupun bagian luar, dengan tujuan mencegah, meredakan atau menyembuhkan penyakit. Menurut Badan Pengawasan Obat dan Makanan RI (2019), obat adalah bahan atau paduan bahan, termasuk produk biologi, yang digunakan untuk memengaruhi atau menyelidiki sistem fisiologi atau keadaan patologi dalam rangka penetapan diagnosis, pencegahan, penyembuhan, pemulihan, peningkatan kesehatan dan kontrasepsi untuk manusia.

Meskipun obat bisa menyembuhkan penyakit, masih banyak juga manusia yang mengalami keracunan akibat penggunaan obat yang tidak tepat. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa sifat obat bisa bervariasi antara sebagai obat atau sebagai racun. Sebuah obat akan dianggap sebagai obat jika digunakan dengan benar dalam pengobatan suatu penyakit dengan dosis dan waktu yang sesuai. Namun, jika obat tersebut digunakan dalam dosis yang berlebihan, dapat menyebabkan keracunan, sedangkan dosis yang terlalu kecil tidak akan memberikan efek penyembuhan (Rusnaeni & Simaremare, 2019).

PT Indofarma Tbk merupakan salah satu industri Badan Usaha Milik Negara (BUMN) yang bergerak di bidang farmasi dengan memproduksi berbagai macam produk obat. Dalam menjamin kualitas produk yang dihasilkan, PT Indofarma Tbk melakukan pengujian mutu melalui penerapan sistem Cara Pembuatan Obat yang Baik (CPOB)

terhadap produk obat yang berdasarkan proses produksinya yaitu pengujian bahan awal, bahan pengemas, produk antara, produk ruahan dan produk jadi. Salah satu produk yang diujikan merupakan sediaan produk obat jadi tablet alopurinol 100 mg.

Alopurinol atau 1H-Pirazol[3,4-d]pirimidin-4-ol adalah obat Anti Inflamasi Non Steorid (AINS), yang sering digunakan untuk mengatasi kadar asam urat dalam darah dengan menghambat Xantin Oksidase (XO) yaitu enzim yang dapat mengubah hipoxantin menjadi xantin, selanjutnya mengubah xantin menjadi asam urat. Obat ini diklasifikasikan sebagai sistem klasifikasi biofarmasi kelas II yang memiliki kelarutan dalam air yang rendah tetapi permeabilitas tinggi. Sediaan obat ini secara konvensional tersedia dalam bentuk tablet (Ernawati & Susanti, 2014)

Informasi mengenai mutu produk obat sangat dibutuhkan untuk memberikan kepercayaan kepada masyarakat terhadap produk obat tersebut. Oleh karena itu, dibutuhkan fakta ilmiah untuk mendukung informasi mengenai mutu produk obat. Pengujian mutu sediaan produk jadi tablet alopurinol 100 mg dengan parameter uji yang dilakukan di antaranya uji disolusi secara spektrofotometri UV-Visible dan penetapan kadar zat aktif secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

Uji disolusi dan penetapan kadar zat aktif merupakan faktor penting dalam pengendalian mutu obat. Pengujian ini dipersyaratkan pada produk farmasi yang berbentuk tablet, kaplet dan kapsul. Uji disolusi dilakukan untuk mengetahui seberapa banyak persentase zat aktif yang terabsorpsi

dan masuk ke peredaran darah. Sedangkan penetapan kadar zat aktif dilakukan untuk mengetahui kualitas mutu obat dengan mengetahui besarnya kadar zat aktif dalam produk obat sesuai dengan persyaratan yang telah ditetapkan, sehingga dapat meyakinkan masyarakat bahwa produk obat tersebut aman dan efektif sesuai label atau indikasi penggunaan.

Percobaan ini bertujuan menguji kemampuan disolusi dan penetapan kadar zat aktif alopurinol dalam produk jadi tablet alopurinol 100 mg. Hasil pengujian yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan spesifikasi syarat keberterimaan yang ditetapkan oleh PT Indofarma Tbk yang mengacu pada *The United States Pharmacopeia* (USP) 39 2016 dan Farmakope Indonesia (FI) Edisi VI 2020.

## METODE PENELITIAN

### Tempat dan Waktu

Percobaan ini merupakan bagian dari kegiatan Praktik Kerja Industri yang dilaksanakan di Laboratorium *Research and Development* PT Indofarma Tbk, Jalan Indofarma No. 1, Cikarang Barat, Bekasi, Jawa Barat. Pelaksanaan Praktik Kerja Industri dilaksanakan dari bulan Maret sampai dengan September 2021.

### Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam percobaan ini meliputi bahan uji dan bahan kimia. Bahan uji yang digunakan yaitu produk jadi tablet alopurinol 100 mg yang terdiri dari dua *batch*, yaitu 21 AL1 001-P (992) dan 21 AL1 003-P (1129). Bahan kimia yang digunakan yaitu padatan baku kerja alopurinol, padatan amonium dihidrogen fosfat ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ), larutan asam klorida (HCl) 37% (b/b), larutan natrium hidroksida (NaOH) 1 dan 0,1 N dan air demin.

Alat-alat yang digunakan dalam percobaan ini terdiri dari alat utama dan alat pendukung. Alat utama yang digunakan yaitu Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merek *Hitachi L-7000 series* dan merek *Agilent 1260 Infinity*, *dissolution tester* merek *Hanson SR-08* dan spektrofotometer UV-Visible merek *Shimadzu UV-1800*. Peralatan

penunjang yang digunakan yaitu neraca analitik merek *Scaltec*, *ultrasonic cleaner*, *vacuum filter*, *sentrifuge*, labu ukur 25, 50, 100 dan 1000 mL, pipet volume 2 dan 10 mL, gelas ukur 1000 dan 6000 mL, gelas piala 100, 200 dan 500 mL, *vial* 25 mL, *vial* KCKT, keranjang, *bulb*, *magnetic stirrer*, *stirrer*, *syringe*, *vessel* disolusi, *paddle* disolusi dan penyaring *millex HV* 0,45  $\mu\text{m}$ .

## Cara Kerja

### 1. Tahap Persiapan

#### a. Pembuatan Media Disolusi

Media Disolusi HCl 0,01 N dibuat dengan cara mencampur 4,97 mL HCl 37% (b/b) dengan 6000 mL air demin, kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*.

#### b. Pembuatan Fasa Gerak

Padatan amonium dihidrogen fosfat ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ) ditimbang sebanyak 5,7515 g dan dimasukkan ke dalam labu ukur 1000 mL, lalu ditambahkan  $\pm 200$  mL air demin, kemudian disonikasi selama 5 menit. Larutan fasa gerak yang telah disonikasi didiamkan sampai suhu larutan sama dengan suhu ruang, kemudian diencerkan dengan air demin sampai tanda batas tera dan dihomogenkan. Larutan tersebut kemudian disaring dengan penyaring membran *millex HV* 0,45  $\mu\text{m}$  menggunakan *vacuum filter*, lalu *de-gassed* menggunakan *ultrasonic cleaner* selama 10 menit. Fase gerak yang telah *de-gassed* didiamkan sampai suhu larutan fase gerak sama dengan suhu ruang.

#### c. Pembuatan Larutan Standar untuk Uji Disolusi

Padatan baku kerja alopurinol ditimbang teliti sebanyak 20 mg dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, lalu ditambahkan 10,00 mL natrium hidroksida 1 N, kemudian disonikasi selama 5 menit. Larutan standar uji disolusi yang telah disonikasi didiamkan sampai suhu larutan sama dengan suhu ruang, kemudian diencerkan dengan larutan media disolusi sampai tanda batas tera dan

dihomogenkan. Larutan standar alopurinol dipipet 2,0 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, diencerkan dengan larutan media disolusi sampai tanda batas tera dan dihomogenkan.

#### **d. Pembuatan Larutan Uji Disolusi**

Media disolusi dimasukkan sebanyak 900 mL ke dalam *vessel* yang terdapat pada alat uji disolusi, kemudian diatur suhunya pada 37°C dan didiamkan sampai suhunya konstan pada 37,0±0,5°C dan *paddle* pada alat dipasang. Jarak *paddle* diatur dengan dasar *vessel* 25±2 mm. Sebanyak 6 sediaan tablet dalam satu *batch* ditimbang kemudian dimasukkan satu persatu ke dalam *vessel* yang terdapat pada alat uji disolusi. *Vessel* yang sudah berisi tablet segera diputar dengan kecepatan 75 rpm selama 45 menit.

Larutan hasil uji pada *vessel* disolusi kemudian di-*sampling* dengan menggunakan alat *sampling* sebanyak 25 mL. Larutan hasil disolusi disaring dengan menggunakan penyaring *millex HV* 0,45 µm, sebanyak 5 mL filtrat pertama dibuang dan filtrat berikutnya ditampung pada *vial* 25 mL. Larutan uji disolusi dipipet 2,00 mL, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan diencerkan dengan media disolusi sampai tanda batas tera, kemudian dihomogenkan.

#### **e. Pembuatan Larutan Standar Penetapan Kadar Zat Aktif Alopurinol**

Padatan baku kerja alopurinol ditimbang teliti sebanyak 50 mg dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, kemudian dilarutkan dengan ditambahkan 10,00 mL natrium hidroksida 0,1 N dan disonikasi selama 10 menit. Larutan standar penetapan kadar zat aktif alopurinol yang telah disonikasi didiamkan sampai suhu larutan sama dengan suhu ruang, kemudian diencerkan dengan air demin hingga batas tanda tera dan dihomogenkan. Larutan standar

alopurinol dipipet 2,0 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, diencerkan dengan fasa gerak sampai tanda batas tera dan dihomogenkan. Larutan standar kemudian disaring dengan penyaring *millex HV* 0,45 µm, beberapa volume filtrat pertama dibuang dan filtrat berikutnya ditampung pada *vial* KCKT.

#### **f. Pembuatan Larutan Uji Penetapan Kadar Zat Aktif Alopurinol**

Produk jadi tablet alopurinol 100 mg ditimbang sebanyak 10 tablet, kemudian dihitung bobot rata-rata, lalu digerus menjadi serbuk halus dan dihomogenkan. Serbuk tablet ditimbang teliti setara dengan lebih kurang 50 mg alopurinol.

Serbuk tablet yang telah ditimbang teliti sesuai dengan hasil perhitungan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, ditambahkan 10,00 mL natrium hidroksida 0,1 N dan disonikasi selama 10 menit hingga larut sempurna. Larutan yang telah disonikasi didiamkan sampai suhu larutan sama dengan suhu ruang, kemudian ditambahkan air hingga batas tanda tera dan dihomogenkan. Larutan uji dituang ke dalam *vial* 25 mL dan disentrifugasi menggunakan *centrifuge* dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Setelah proses sentrifugasi, filtrat larutan uji dipipet 2,0 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, diencerkan dengan fasa gerak sampai tanda batas tera dan dihomogenkan. Larutan uji disaring dengan menggunakan penyaring *millex HV* 0,45 µm, beberapa volume filtrat pertama dibuang dan filtrat berikutnya ditampung pada *vial* KCKT.

## **2. Tahap Pengujian**

### **a. Uji Disolusi**

Larutan standar dan larutan uji disolusi diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 250 nm dan media disolusi digunakan sebagai larutan *blanko*. Hasil respon diukur dan dicatat berdasarkan serapan

absorbansi masing-masing sampel. Kadar zat aktif alopurinol yang terlarut per tablet yang dinyatakan dalam Q pada kriteria penerimaan hasil uji disolusi dapat dihitung dengan rumus:

$$Disolusi = \frac{Au \times Ws \times f \times 4,5}{As \times 100} \times 100\% \quad (1)$$

di mana Disolusi adalah kadar zat aktif alopurinol yang terlarut (%), Au adalah serapan yang didapat dari larutan uji, Ws adalah bobot baku kerja alopurinol (mg), f adalah faktor kesetaraan baku kerja alopurinol (0,9957), 4,5 adalah faktor pengenceran, As adalah serapan yang didapat dari larutan baku dan 100 adalah kandungan alopurinol tiap tablet sesuai yang tertera pada etiket (mg)

**b. Uji Kesesuaian Sistem KCKT**

Uji kesesuaian sistem dilakukan terhadap larutan standar penetapan kadar zat aktif alopurinol, diukur serapannya menggunakan KCKT dengan kolom L1 *Mightysil* RP C18 (4 mm × 30 cm) 5 μm, detektor UV pada panjang gelombang 254 nm, laju alir 1,5 mL/menit dan volume injeksi 20 μL. Larutan diinjeksikan sebanyak enam kali ulangan. Persen nilai Simpangan Baku Relatif (SBR) larutan standar dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\%SBR = \frac{SD \ Rs}{\bar{X}Rs} \times 100\% \quad (2)$$

di mana %SBR adalah simpangan baku relatif (%), SD Rs adalah standar deviasi luas area puncak utama kromatogram dan RT (menit) yang didapatkan dari larutan standar  $\bar{X}Rs$  adalah rata-rata luas area puncak utama kromatogram dan RT (menit) yang didapatkan dari larutan standar.

**c. Penetapan Kadar Zat Aktif Alopurinol secara KCKT**

Larutan uji diukur kadarnya menggunakan KCKT dengan kolom L1 *Mightysil* RP C18 (4 mm × 30 cm) 5

μm, detektor UV pada panjang gelombang maksimum 254 nm, lajur alir 1,5 mL/menit dan volume injeksi 20 μL. Larutan uji diinjeksikan dengan kesesuaian sistem sebanyak satu kali dari masing-masing *vial*. Hasil respon diukur dan dicatat luas area puncak utama masing-masing kromatogramnya. Kadar zat aktif alopurinol dapat dihitung dengan rumus:

$$Kadar(\%) = \frac{Ru \times Ws \times f \times \bar{X}W}{Ru \times Ws \times 100} \times 100\% \quad (3)$$

di mana Ru adalah luas area puncak alopurinol dari kromatogram yang didapat dari larutan uji, Ws adalah bobot baku kerja alopurinol dalam larutan baku (mg), f adalah faktor kesetaraan baku kerja alopurinol (0,9957),  $\bar{X}W$  adalah rerata bobot tablet yang ditimbang (mg), Rs adalah luas area puncak alopurinol dari kromatogram yang didapat dari larutan baku, Wu adalah bobot penimbangan sampel dalam larutan uji (mg) dan 100 adalah kandungan alopurinol tiap tablet sesuai yang tertera pada etiket (mg)

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Sediaan tablet alopurinol 100 mg yang diujikan merupakan sediaan produk jadi *trial* sebelum dilakukan uji stabilitas selama 18 bulan pada suhu 30°C. Hasil pengujian mutu sediaan produk jadi tablet alopurinol 100 mg untuk dua *batch* dapat diketahui dengan melakukan pengujian beberapa parameter yaitu uji disolusi dan penetapan kadar zat aktif. Hasil yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan spesifikasi yang telah ditetapkan oleh perusahaan, yang mengacu pada USP 39 2016 dan Farmakope Indonesia Edisi VI 2020. Hasil keseluruhan pengujian dan syarat keberterimaan disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil pengujian dan syarat keberterimaan tablet alopurinol 100 mg

Parameter Uji	No. Batch	Syarat Keberterimaan (USP 39, 2016; FI VI, 2020)	Rerata Hasil Uji (%)	Keterangan
Uji Disolusi	21 AL1 001-P (992)	≥80% atau Q = 75%	95,80	Memenuhi Syarat

	21 AL1 003-P (1129)		98,63	Memenuhi Syarat
Penetapan Kadar Zat Aktif	21 AL1 001-P (992)	(93,00-107,00)%	101,29	Memenuhi Syarat
	21 AL1 003-P (1129)		98,73	Memenuhi Syarat

**Uji Disolusi**

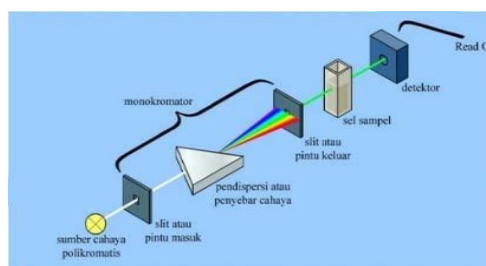
Disolusi adalah suatu proses perpindahan molekul obat dari bentuk padat ke dalam larutan suatu media dalam satuan waktu, sehingga untuk mengetahui prosesnya dilakukan pengamatan terhadap jumlah zat aktif yang terlarut ke dalam medium sebagai fungsi waktu. Uji disolusi merupakan uji *in vitro*, yaitu uji yang dilakukan di luar tubuh dengan menggunakan suatu peralatan dengan kondisi pengujian mirip dengan kondisi saluran pencernaan manusia. Uji ini dimaksudkan untuk mengetahui banyaknya zat aktif yang terlarut dan memberikan efek terapi di dalam tubuh (Ansel, 2008; Fudholi, 2013)

Saat partikel obat mengalami proses disolusi, molekul-molekul obat pada permukaan mula-mula masuk ke dalam larutan menciptakan suatu lapisan jenuh yang membungkus permukaan partikel obat padat. Lapisan larutan ini dikenal sebagai lapisan difusi. Dari lapisan difusi ini, molekul-molekul obat keluar melewati cairan yang melarut dan berhubungan dengan membran biologis kemudian mulai terjadi absorpsi. Jika molekul-molekul obat terus meninggalkan lapisan difusi, molekul-molekul tersebut diganti dengan obat yang dilarutkan dari permukaan partikel obat dan proses absorpsi tersebut berlanjut (Ansel, 2008; Siregar & Wikarsa, 2010). Proses disolusi disajikan pada Gambar 1.



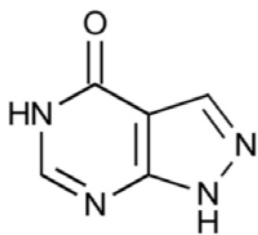
**Gambar 1.** Mekanisme melarutnya tablet/kapsul setelah dikonsumsi (Siregar & Wikarsa, 2010)

Uji disolusi pada pengujian produk jadi tablet alopurinol 100 mg dilakukan melalui konsep spektrofotometri. Konsentrasi dari analit dalam larutan dapat ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Gandjar & Rohman, 2007). Hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa jumlah radiasi cahaya yang diserap atau ditransmisikan oleh suatu larutan berbanding lurus dengan konsentrasi larutan dan ketebalan wadah sampel. Prinsip kerja spektrofotometer UV-Visible adalah interaksi yang terjadi antara energi berupa sinar monokromatis dari sumber sinar dengan materi berupa molekul. Besar energi yang diserap tertentu dan menyebabkan elektron tereksitasi dari keadaan dasar ke keadaan tereksitasi yang memiliki energi lebih tinggi. Instrumentasi pada spektrofotometer UV-Visible dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Instrumentasi pada spektrofotometer UV-Visible (Sumber: Khopkar, 2003)

Dewi (2014) menyatakan bahwa berdasarkan struktur kimianya, alopurinol memiliki gugus kromofor dan gugus aoksokrom yang dapat menyerap radiasi pada panjang gelombang di daerah ultraviolet. Oleh karena itu, alopurinol dapat ditentukan kadarnya secara spektrofotometri ultraviolet.



**Gambar 3.** Struktur kimia alopurinol (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2020)

Gugus kromofor adalah gugus senyawa radikal yang terdiri dari ikatan ganda terkonjugasi yang mengandung elektron terdelokalisasi. Gugus kromofor biasanya meliputi gugus azo (-N=N-), karbonil (-C=O-), karbon-nitrogen (-C=NH- atau -CH=N-), nitroso (-NO atau N-OH), nitro (-NO<sub>2</sub> atau =NO-OH) dan sulfur (C=S). Adanya gugus terionisasi yang dikenal sebagai auksokrom memberikan peningkatan absorpsi dan kekuatan ikatan pada suatu senyawa. Beberapa gugus auksokrom adalah -NH<sub>3</sub>, -COOH, -HSO<sub>3</sub>, -OH (Ardyani, 2012)

Uji disolusi pada pengujian produk jadi tablet alopurinol 100 mg dilakukan terhadap 12 tablet dengan masing-masing *batch* diuji sebanyak 6 tablet. Metode yang digunakan adalah metode *paddle* atau alat tipe II yang secara umum digunakan untuk jenis obat tablet. *Paddle* diatur kecepatan perputarannya pada 75 rpm selama 45 menit, karena diperkirakan zat aktif dalam tablet sudah larut dalam waktu tersebut. Larutan media disolusi yang digunakan yaitu larutan HCl 0,01 N, sesuai dengan pH cairan mendekati komposisi lambung buatan yaitu pH 1,2. Media disolusi juga harus dipertahankan pada suhu 37±0,5°C, dimaksudkan untuk menyesuaikan keadaan suhu fisiologis tubuh manusia. Penetapan kadar zat aktif hasil uji disolusi diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometri ultraviolet pada panjang gelombang 250 nm, kemudian dibandingkan dengan larutan standar. Hasil kadar zat aktif yang terlarut dilakukan perhitungan sesuai dengan rumus yang telah ditetapkan oleh perusahaan (Fadilah, 2016).

Spesifikasi dari perusahaan mensyaratkan bahwa produk jadi tablet alopurinol 100 mg dinyatakan lolos uji pelarutan jika dalam waktu 45 menit kadar zat

aktif terlarut harus tidak kurang dari Q+5% sesuai dengan kriteria penerimaan dalam uji disolusi atau tidak kurang dari 80% dari jumlah yang tertera pada etiket. Hasil uji disolusi disajikan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil uji disolusi tablet alopurinol 100 mg

No. Batch	Kadar Disolusi (%)	Rata-rata Kadar Disolusi (%)
21 AL1001-P (992)	97,31	95,80
	94,29	
	98,07	
	91,83	
	95,04	
21 AL1003-P (1129)	98,26	98,63
	110,35	
	96,63	
	95,67	
	93,93	
	95,86	
	99,34	

Berdasarkan Tabel 2, hasil penetapan kadar zat aktif terlarut pada produk jadi tablet alopurinol 100 mg selama 45 menit diperoleh hasil rata-rata kadar zat terlarut pada *batch* 21 AL1 001-P (992) sebesar 95,80%, sedangkan pada *batch* 21 AL1 003-P (1129) diperoleh sebesar 98,63%. Hal ini menunjukkan bahwa kedua *batch* produk jadi tablet alopurinol 100 mg tersebut memenuhi syarat keberterimaan yang telah ditetapkan oleh PT Indofarma Tbk yang mengacu pada USP 39 2016 dan Farmakope Indonesia Edisi VI 2020. Berdasarkan hasil tersebut maka kedua *batch* produk jadi tablet alopurinol 100 mg dinyatakan lolos uji pelarutan karena dalam waktu 45 menit zat aktif yang terlarut tidak kurang dari Q+5% atau tidak kurang dari 80% dari jumlah yang tertera pada etiket.

Hasil uji disolusi pada kedua *batch* diperoleh hasil yang berbeda-beda, hal tersebut disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain : 1) Sifat fisikokimia obat (kelarutan, kompleksasi dan ukuran-ukuran partikel), 2) Faktor formulasi sediaan (bentuk sediaan, jumlah dan jenis eksipien, dan cara pengolahan), 3) Faktor alat dan kondisi lingkungan (kecepatan pengadukan, sifat dan

karakteristik media disolusi dan metode uji yang digunakan) (Maharani, 2017).

Adanya perbedaan laju disolusi pada pengujian ini kemungkinan disebabkan karena perbedaan sifat fisikokimia obat atau faktor formulasi karena penelitian ini dilakukan dengan menggunakan alat dan kondisi yang sama. Bentuk zat khasiat dan formula obat tidak dapat diinformasikan oleh produsen. Pada umumnya kandungan zat aktif kedua *batch* obat tersebut sama. Perbedaan antara keduanya bukan pada zat aktifnya, tetapi biasanya pada formula yang mencakup bentuk, warna, rasa atau zat inaktifnya.

Berdasarkan pada hasil uji fisik, pada sampel dengan nomor *batch* 21 AL1 001-P (992) diperoleh hasil rentang waktu hancur lebih lama dibandingkan dengan nomor *batch* 21 AL1 003-P (1129). Hal tersebut menyebabkan sampel dengan nomor *batch* 21 AL1 001-P (992) menghasilkan kadar yang lebih sedikit dibandingkan dengan nomor *batch* 21 AL1 003-P (1129). Waktu hancur sediaan tablet sangat berpengaruh dalam fase biofarmasi obat karena dapat memberikan gambaran mudah tidaknya tablet terdisintegrasi. Tablet mula-mula akan hancur, kemudian zat aktif terlepas, terdisolusi, diserap dan didistribusikan ke tempat kerjanya. Supaya zat aktif sepenuhnya diabsorpsi dalam saluran cerna, maka tablet harus hancur ke dalam cairan tubuh untuk dilarutkan. Waktu hancur dapat dipengaruhi oleh bahan penghancur atau desintegran (jenis dan jumlahnya) dan banyaknya pengikat yang digunakan dalam formulasi tablet, karena desintegran merupakan bahan yang akan menyebabkan tablet pecah dan hancur dalam air atau cairan lambung. Waktu hancur yang lama akan berakibat pada waktu disolusi yang lama pula sehingga onset obat akan tertunda (Kramer, 2009; Banne et al., 2012)

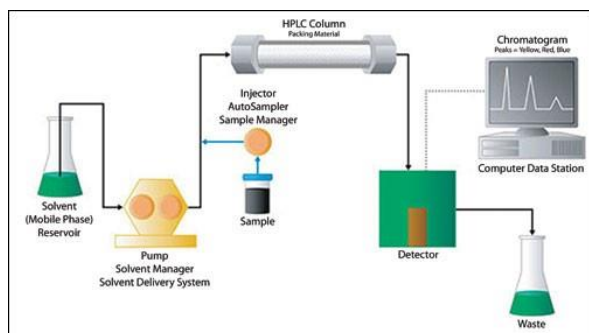
Dalam tubuh, absorpsi obat dalam bentuk tablet atau kapsul tergantung dari pelepasan zat khasiat dari tablet, kelarutan obat dalam kondisi fisiologis dan permeabilitas dalam melintasi saluran pencernaan. Sehingga disolusi obat secara *in vitro* dapat memprediksi kinerja obat secara *in vivo*.

### Uji Kesesuaian Sistem KCKT

Uji kesesuaian sistem (UKS) adalah suatu proses untuk memastikan bahwa instrumen dan prosedur analisis yang digunakan pada pengujian tertentu beroperasi dengan benar sehingga memberikan hasil yang dapat dipercaya. Sebelum dilakukan penetapan kadar zat aktif pada sampel, instrumen KCKT harus disesuaikan kondisinya terlebih dahulu dengan melakukan uji kesesuaian sistem yang bertujuan untuk memastikan suatu sistem kromatografi telah tepat dan akurat saat digunakan dalam pengujian, yang dapat dipastikan dari keberulangan nilai luas area dan waktu retensi puncak yang dihasilkan (Emelia, 2015) Menurut Susanti & Dachriyanus (2017), kromatografi adalah teknik pemisahan fisik suatu campuran zat-zat kimia (analit) berdasarkan perbedaan migrasi/distribusi masing-masing komponen campuran yang terpisah pada fase diam (*stationary phase*) di bawah pengaruh fase gerak (*mobile phase*), fase gerak dapat berupa gas atau zat cair dan fase diam dapat berupa zat cair atau zat padat. KCKT merupakan kromatografi kolom, sebagaimana kromatografi kolom akan mengalami pemisahan senyawa-senyawa di dalamnya. Jika kekuatan interaksi masing-masing senyawa berbeda-beda maka senyawa-senyawa tersebut akan terpisah menjadi puncak-puncak tersendiri. Progres dari pemisahan kromatografi ini akan dimonitor oleh suatu detektor yang sesuai yang terletak pada ujung kolom. Hasil yang diperoleh akan berbentuk suatu kromatogram yang terdiri atas puncak untuk masing-masing senyawa yang terpisah.

Instrumentasi KCKT terdiri beberapa bagian, yaitu wadah fase gerak (*reservoir*), pompa (*pump*), tempat injeksi sampel (*injector*), kolom (*column*), wadah buangan fase gerak, detektor dan sistem komputasi pengolah data kromatogram seperti komputer, serta injektor sampel otomatis atau oven untuk instrumen yang lebih rumit (Watson, 2012). Instrumentasi KCKT secara skematik dapat dilihat pada Gambar 4.





**Gambar 4.** Ilustrasi skematik KCKT (Watson, 2012)

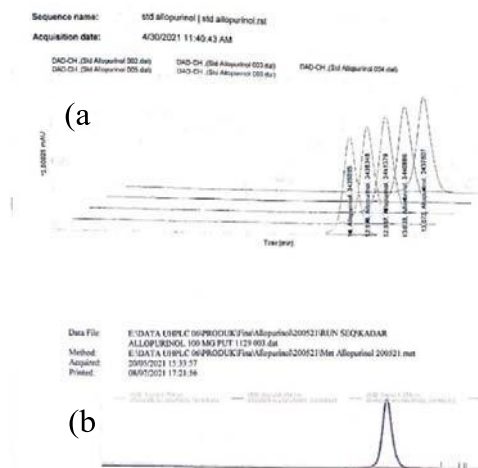
Uji kesesuaian sistem menggunakan larutan standar uji penetapan kadar zat aktif alopurinol akan menghasilkan nilai simpangan baku relatif yang tidak boleh lebih dari 1,00% untuk parameter luas area dan *Retention Time* (RT), nilai *tailing factor* harus lebih kecil dari atau sama dengan 1,6 ( $TF \leq 1,6$ ), dan *theoretical plate* harus lebih besar atau sama dengan 1000 ( $N_{plate} \geq 1000$ ). Pengujian ini dilakukan penginjeksian larutan standar alopurinol sebanyak 6 kali ulangan (The United States Pharmacopeia 39, 2016).

Hasil perhitungan uji kesesuaian sistem larutan standar uji penetapan kadar zat aktif alopurinol untuk *batch* 21 AL1 001-P (992) yang dilakukan pada tanggal 30 April 2021 menggunakan KCKT merek *Agilent* 1260 *Infinity* dan *batch* 21 AL1 003-P (1129) yang dilakukan pada tanggal 20 Mei 2021 menggunakan KCKT merek *Hitachi* L-7000 *series* dengan parameter luas area, RT, *tailing factor* dan *theoretical plate* disajikan pada Tabel 3, contoh kromatogram standar baku alopurinol disajikan pada Gambar 5.

**Tabel 3.** Hasil pengukuran uji kesesuaian sistem KCKT

No. Batch	Parameter	Rerata	%SBR
21AL1001-P (992)	Luas Area Standar	3438883	0,07
	RT (Menit)	13,01	0,31
	<i>Tailing factor</i>	1,04	
	<i>Theoretical plate</i>	1923	
21AL1003-P (1129)	Luas Area Standar	14513897	0,16
	RT (Menit)	11,37	0,28

*Tailing factor* 1,11  
*Theoretical plate* 3967,17



**Gambar 5.** Contoh kromatogram standar baku alopurinol (a) *batch* 21 AL1 001-P (992) & (b) *batch* 21 AL1 003-P (1129)

Berdasarkan Tabel 3, diperoleh %SBR luas area standar untuk *batch* 21 AL1 001-P (992) dan *batch* 21 AL1 003-P (1129) masing-masing sebesar 0,07% dan 0,16%. Sedangkan %SBR RT untuk *batch* 21 AL1 001-P (992) dan *batch* 21 AL1 003-P (1129) masing-masing sebesar 0,31% dan 0,28%, nilai rata-rata *tailing factor* untuk *batch* 21 AL1 001-P (992) dan *batch* 21 AL1 003-P (1129) masing-masing sebesar 1,04 dan 1,11, dan nilai rata-rata *theoretical plate* untuk *batch* 21 AL1 001-P (992) dan *batch* 21 AL1 003-P (1129) masing-masing sebesar 1923 dan 3967,17. Semua parameter pada uji kesesuaian sistem yaitu luas area, RT, *tailing factor*, dan *theoretical plate* memenuhi kriteria dengan syarat %SBR luas area  $\leq 1,00\%$ , %SBR RT  $\leq 1,00\%$ , *tailing factor*  $\leq 1,6$  dan *theoretical plate*  $\geq 1000$ .

Menurut Susanti & Dachriyanus (2017), suatu sistem dikatakan sesuai jika memenuhi persyaratan presisi dan salah satu parameter-parameter uji seperti resolusi (daya pisah), penentuan sistem presisi, faktor simetri (*tailing factor*), efisiensi kolom dan faktor kapasitas kolom. Nilai rata-rata *tailing factor* menunjukkan derajat simetris suatu kromatogram. Puncak yang simetris atau setangkep memiliki nilai *tailing factor*

sebesar 1,0. Bila puncak berbentuk *tailing*, maka nilai *tailing factor* lebih dari 1,0, sebaliknya jika nilai *tailing factor* kurang dari 1,0 maka akan berbentuk *fronting*. Semakin besar nilai *tailing factor* maka kolom yang digunakan semakin kurang efisien. Berdasarkan hasil yang diperoleh rerata *tailing factor* untuk *batch* 21 AL1 001-P (992) dan *batch* 21 AL1 003-P (1129) masing-masing sebesar 1,04 dan 1,11, maka telah memenuhi syarat keberterimaan yaitu *tailing factor*  $\leq 1,6$ . Namun kromatogram yang dihasilkan tidak setangkup karena *tailing factor*  $\geq 1,0$  sehingga kromatogram yang dihasilkan berbentuk *tailing*. Hal ini dapat diatasi dengan mengurangi jumlah volume sampel saat penginjeksian.

Bilangan Lempeng (N) atau *theoretical plate* merupakan salah satu parameter untuk menunjukkan efisiensi kolom yang menyatakan jumlah peristiwa partisi yang dialami oleh analit pada setiap saat yang dibawa oleh fase gerak selama proses elusi. Berdasarkan hasil yang diperoleh rerata *theoretical plate* untuk *batch* 21 AL1 001-P (992) dan *batch* 21 AL1 003-P (1129) masing-masing sebesar 1923 dan 3967,17, maka telah memenuhi spesifikasi perusahaan yaitu *N plate*  $\geq 1000$ . Semakin besar nilai *theoretical plate* maka puncak yang dihasilkan semakin efisien serta pemisahan analit yang semakin baik. Sebab pada umumnya efisiensi kolom KCKT meningkat dengan semakin kecilnya ukuran partikel yang ada dalam kolom, sehingga dalam proses pemisahan diharapkan menghasilkan harga N yang sebesar-besarnya (Susanti & Dachriyanus, 2017).

### Penetapan Kadar Zat Aktif Alopurinol

Penetapan kadar zat aktif secara KCKT dilakukan untuk mengetahui besarnya kandungan atau kadar zat aktif dalam produk obat. Hal ini dilakukan karena produk obat harus sesuai dengan spesifikasi yang telah ditetapkan oleh perusahaan yang mengacu pada *The United States Pharmacopeia* (USP) 39 2016 dan Farmakope Indonesia Edisi VI 2020 dan dosisnya tidak boleh melebihi atau terlalu rendah agar aman untuk dikonsumsi, sehingga dapat memberikan efek terapi yang optimal pada tubuh. Jika dosisnya melebihi

atau terlalu rendah maka akan memberikan efek samping dan terapi yang tidak optimal pada tubuh (Nuryati, 2017).

Penetapan kadar zat aktif tablet alopurinol 100 mg yang terdiri dari dua *batch* dilakukan secara KCKT menggunakan detektor UV karena zat aktif alopurinol menyerap sinar pada panjang gelombang 250 nm. Sampel diinjeksikan sebanyak dua kali ulangan tiap masing-masing *batch*. Hasil data yang diperoleh untuk menetapkan kadar zat aktif dalam larutan uji yaitu dengan cara membandingkan hasil kromatogram atau luas kromatogram utama yang dihasilkan oleh larutan uji dengan larutan standar. Hasil uji penetapan kadar zat aktif alopurinol tablet alopurinol 100 mg tiap *batch* disajikan pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil penetapan kadar zat aktif alopurinol 100 mg

No. Batch	Kadar Alopurinol (%)	Rerata Kadar Alopurinol (%)	%SBR
21 AL1 001-P (992)	101,25 101,34	101,29	0,07
21 AL1 003-P (1129)	98,68 98,78	98,73	0,07

Produk jadi tablet alopurinol 100 mg yang dihasilkan pada tiap *batch* menghasilkan kadar yang berbeda. Perbedaan ini disebabkan karena pada saat proses pencetakan dan pengisian serbuk dapat memengaruhi kandungan zat aktif di dalamnya. Perbedaan daya tekan alat dapat menghasilkan bobot tablet yang tidak seragam. Selain itu perbedaan penambahan jenis dan jumlah eksipien pada masing-masing *batch* dalam formulasi obat juga dapat mempengaruhi kadarnya. Apabila hasil yang didapat pada penetapan kadar zat aktif tablet alopurinol 100 mg tidak memenuhi syarat keberterimaan, maka segera dilaporkan kepada bagian produksi untuk tidak didistribusikan ke konsumen karena tidak memenuhi

persyaratan yang telah ditetapkan oleh perusahaan. Jika kadar yang diperoleh kurang dari persyaratan, maka akan memberikan efek terapi yang tidak optimal bagi tubuh. Sedangkan kadar yang melebihi persyaratan maka akan memberikan dampak toksik atau efek samping bagi tubuh konsumen yang mengkonsumsinya.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian dengan parameter uji disolusi tablet alopurinol 100 mg terhadap masing-masing *batch* yang diuji, diperoleh rata-rata kadar *batch* 21 AL1 001-P (992) sebesar 95,80% dan *batch* 21 AL1 003-P (1129) sebesar 98,63%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar disolusi telah memenuhi persyaratan yang ditetapkan oleh perusahaan yaitu sebesar >80%. Hasil penetapan kadar zat aktif alopurinol diperoleh rata-rata kadar untuk *batch* 21 AL1 001-P (992) sebesar 101,29% dan *batch* 21 AL1 003-P (1129) sebesar 98,73%. Hasil tersebut masuk ke dalam spesifikasi yang ditentukan oleh perusahaan yaitu berkisar 93,00-107,00%. Hasil pengujian tablet alopurinol 100 mg memenuhi spesifikasi perusahaan yang mengacu pada USP 39 2016 dan Farmakope Indonesia Edisi VI 2020.

## DAFTAR PUSTAKA

Ansel, H. C. (2008). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Diterjemahkan oleh Farid Ibrahim. Universitas Indonesia Press. Jakarta.

Ardyani, T. (2012). *Adsorpsi Zat Warna Methyl Red Menggunakan Pasir Vulkanik Gunung Merapi*. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.

Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. (2019). *Pedoman Cara Pembuatan Obat yang Baik*. Jakarta.

Banne, Y., Ulaen, S. P., & Lombeng, F. (2012). Uji kekerasan, keregangan, dan waktu hancur beberapa tablet ranitidin. *JURNAL ILMIAH FARMASI (JIF)*, 3(2), 74-78.

Dewi, R. K. (2014). *Validasi Metode Analisis Alopurinol dalam Tablet secara*

*Spektrofotometri dan Jamu secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Fase Terbalik serta Aplikasinya*. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.

- Emelia, V. (2015). *Optimasi Penetapan Kadar p-Phenylenediamine (PPD) dan Uji Kesesuaian Sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)* (Doctoral dissertation, Tesis).
- Ernawati, E., & Susanti, H. (2014). Penghambatan aktivitas xanthine oxidase oleh ekstrak etanol sarang semut (*Myrmecodia tuberosa* (non Jack) Bl.) secara in vitro. *Pharmaciana*, 4(1), 15-22.
- Fadilah, F. (2016). *Uji Disolusi Kapsul Kloramfenikol Spektrofotometri UV-Visible yang Diproduksi oleh PT Kimia Farma (Persero) Tbk. Plant*. Karya Ilmiah. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Fudholi, A. (2013). *Disolusi dan Pelepasan Obat In Vitro*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2020). *Farmakope Indonesia*. Edisi VI. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Kramer, J. (2009). *Establishing a Relationship between Disintegration and Dissolution*. Phast. [www.yumpu.com/en/document/read/108800/establishing-a-relationship-between-disintegration-and-dissolution](http://www.yumpu.com/en/document/read/108800/establishing-a-relationship-between-disintegration-and-dissolution) [diakses pada tanggal 25 Juni 2021].
- Maharani, I. R. (2017). *Uji Disolusi Terbanding Tablet Floating Metformin HCl*. Tesis. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Purwokerto.
- Moffat, A. C., Osselton, M. D., Widdop, B., & Watts, J. (2011). *Clarke's analysis of drugs and poisons* (Vol. 3, p. 533). London: Pharmaceutical press.
- Nuryati, N. (2017). *Farmakologi*, Cetakan Ke-1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Riyanto, R. (2014). *Validasi & Verifikasi Metode Uji*. Deepublish. Yogyakarta.

- Rusnaeni, R. & Simaremare, E. S. (2019). Uji Perbandingan Penetapan Kadar Sediaan Tablet Alopurinol 300 mg Generik dengan Nama Dagang Beredar di Distrik Sentani, Jayapura. *Jurnal Biologi Papua*. 11(1):51-55.
- Siregar, C. J. P. & Wikarsa. S. (2010). *Teknologi Farmasi Sediaan Tablet : Dasar-dasar Praktis*. Jakarta.
- Susanti, M. & Dachriyanus, D. (2017). *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Carano Pustaka Universitas Andalas. Padang.
- The United States Pharmacopeia. (2016). *The United States Pharmacopeia, USP 39*. United States. Pharmacopeial Convention. hal 2380.
- Watson, D. G. (2012). *Pharmaceutical Analysis : A Textbook for Pharmacy Students and Pharmaceutical Analysis*. Edisi Ketiga. Elsevier Chuchill Livingstone. New York.