

PENENTUAN CAMPURAN PARASETAMOL, PROPIFENAZON DAN KOFEIN SECARA SPEKTROFOTOMETRI ULTRAVIOLET DENGAN METODE PRINCIPAL COMPONENT REGRESSION DAN RASIO ABSORBANSI TAHUN 2018

Ainil Fithri Pulungan

Program Studi S1 Farmasi STIKes Imelda Medan

Article Info

Keywords:

Paracetamol
Propifenazone
Kofein
Chemometrics
UV Spectrophotometry
Regression and Ratio
Absorbance

ABSTRACT

In this study, analysis of Principal Component Regression (PCR) and Absorbance Ratio (RA) spectrophotometric methods will be carried out to determine levels of PCT, PRO and KOF in tablet preparations without any separation stage, so that this method is expected to be applied routinely by interested parties. The recovery test is carried out by measuring the percentage of recovery in three specific ranges, namely: 80%, 100% and 120%. Where in each specific range, 70% of the samples (PCT, PRO and KOF) were analyzed and 30% came from the added standard. Then the sample (tablet) and standard mixture were analyzed by the same procedure as for the sample.

This is an open access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



Corresponding Author:

Ainil Fithri Pulungan,
Program Studi S1 Farmasi,
STIKes Imelda Medan,
Jl. Bilal No. 52 Kelurahan Pulo Brayon Darat I Kecamatan Medan Timur, Medan - Sumatera Utara.
Email: ainilfithri240@gmail.com

1. INTRODUCTION

Obat yang beredar sebagian besar adalah kombinasi dari beberapa bahan aktif, yang masing-masing bertujuan untuk meningkatkan efek terapi obat dan kemudahan dalam pemakaiannya (Naid et al, 2011). Tablet yang mengandung parasetamol (PCT), propifenazon (PRO) dan kofein (KOF) merupakan kombinasi yang paling banyak digunakan untuk menghilangkan rasa nyeri. PCT, PRO dan KOF dalam kombinasinya menyebabkan pengurangan jumlah prostaglandin, sedangkan KOF juga diketahui dapat meningkatkan efek analgesik PCT dan KOF secara sinergis, manfaat dari kombinasi obat ini dapat mengurangi sakit kepala, nyeri otot, neuralgia, sakit punggung, nyeri sendi, nyeri rematik, migrain, sakit gigi dan nyeri haid. Kombinasi ini juga terbukti efektif untuk penyakit demam yang berasal dari infeksi bakteri atau virus, dengan efek samping yang terbatas dan kombinasi ini cocok untuk semua umur (Delvadiya et al, 2011).

Penelitian yang dilakukan oleh Aktas (2014), telah melakukan analisis PCT dan KOF dengan menggunakan metode kemometrik diantaranya metode Regresi Kuadrat Terkecil Sebagian (*Partial Least Square*, PLS), Regresi Komponen Utama (*Principal Component Regression*, PCR) dan *Artificial Neural Network* (ANN), hasil penelitiannya menunjukkan bahwa metode spektrofotometri yang dikombinasikan dengan kalibrasi multivariat mampu menetapkan kadar senyawa multikomponen yang overlapping pada

spektrum ultraviolet.

Penelitian yang dilakukan oleh Saraan (2015), dengan menggunakan metode *zero crossing derivatif spectrophotometric* pada penetapan kadar PCT, IBU, KOF menggunakan pelarut dapar posfat pH 7,2, hasil dari penelitiannya menunjukkan bahwa metode tersebut dapat digunakan dalam menentukan kadar zat aktif secara simultan tanpa melakukan tahap pemisahan sebelumnya.

Penelitian yang dilakukan Dzulfianto (2015), dengan menggunakan metode spektrofotometri ultraviolet kemometrika Regresi Kuadrat Terkecil Sebagian (RKTS), hasil dari penelitiannya menunjukkan bahwa metode kalibrasi multivariat dapat digunakan dalam menentukan kadar zat aktif secara simultan tanpa melakukan tahap pemisahan.

Penelitian yang dilakukan oleh Sianipar (2017), dengan menggunakan metode spektrofotometri ultraviolet dengan teknik *zero-crossing*, rasio *zero-crossing* dan *mean centering of ratio spectra*, menunjukkan bahwa hasil dari penelitiannya memenuhi syarat validasi metode dengan menggunakan pelarut campuran dapar posfat pH 7,2 dan metanol dengan perbandingan 70:30.

Metode Spektrofotometri Kemometrik dapat diaplikasikan pada campuran sediaan obat yang terdiri dari dua atau tiga komponen obat atau lebih dan mempunyai panjang gelombang berdekatan ketika dilakukan tumpang tindih spektrumnya.

Metode Spektrofotometri Kemometrik menggunakan metode multivariat yang menawarkan banyak keuntungan dalam melakukan analisis spektroskopi kuantitatif berbagai jenis campuran obat (Muchlisyan dan Pardede, 2016). Bila dibandingkan dengan KCKT, metode spektrofotometri kemometrik memiliki tahapan yang lebih mudah dilakukan dalam penelitian, serta alat yang digunakan memiliki biaya operasional yang relatif lebih murah dan waktu untuk menentukan hasil analisisnya lebih efisien.

Metode Rasio Absorbansi (*Q-Absorbance Ratio*) melibatkan pengukuran absorbansi pada dua panjang gelombang yaitu titik iso-absorptif dan panjang gelombang maksimum (Muchlisyan dan Pardede, 2016).

Penelitian yang dilakukan dengan menggunakan metode Rasio Absorbansi (RA) untuk menetapkan kadar obat secara simultan, seperti yang dilakukan oleh Chitlange et al, (2009) telah melakukan penetapan kadar dexibuprofen dan parasetamol secara simultan dengan menggunakan metode RA, panjang gelombang yang dihasilkan pada titik iso absorptif dan panjang gelombang maksimum adalah 235,5 nm dan 249,5 nm.

Penelitian yang dilakukan oleh Pandey (2013) telah menetapkan kadar lamivudin dan isoniazid dengan menggunakan metode RA dengan menggunakan dua panjang gelombang diantaranya panjang gelombang maksimum 272 nm dan panjang gelombang isoabsorpsi 246 nm dengan konsentrasi larutan 5-30 µg/mL dan telah divalidasi sesuai pedoman International Conference on Harmonization (ICH).

Berdasarkan uraian diatas, dalam penelitian ini akan dilakukan analisis metode spektrofotometri Principal Component Regression (PCR) dan Rasio Absorbansi (RA) untuk penetapan kadar PCT, PRO dan KOF dalam sediaan tablet tanpa adanya tahap pemisahan, sehingga metode ini diharapkan dapat diaplikasikan secara rutin oleh pihak-pihak yang berkepentingan.

Perumusan Masalah

- Apakah pelarut dapar posfat pH 7,2 merupakan jenis pelarut yang lebih baik jika dibandingkan dengan pelarut metanol, campuran dapar posfat pH 7,2 dan metanol dengan perbandingan (90:10; 70:30; 50:50; 30:70; 10:90) untuk menetapkan kadar PCT, PRO dan KOF pada sediaan tablet?
- Apakah metode RKU dan RA yang dilakukan, dapat diaplikasikan untuk menetapkan kadar PCT, PRO dan KOF pada sediaan tablet?
- Apakah metode RKU dan RA memenuhi syarat validasi metode?

Hipotesis

- Pelarut dapar posfat pH 7,2 merupakan jenis pelarut yang lebih baik jika dibandingkan dengan pelarut metanol, campuran dapar posfat pH 7,2 dan metanol dengan perbandingan (90:10; 70:30; 50:50; 30:70; 10:90) untuk menetapkan kadar PCT, PRO dan KOF pada sediaan tablet.
- Metode RKU dan RA dapat dilakukan dan dapat diaplikasikan untuk menetapkan kadar PCT, PRO dan KOF pada sediaan tablet.
- Metode RKU dan RA yang dilakukan memenuhi syarat validasi metode.

Tujuan Penelitian

- Untuk dapat menentukan jenis pelarut terbaik dengan melakukan optimasi pada pelarut metanol, dapar posfat pH 7,2, campuran dapar posfat pH 7,2 dan metanol dengan perbandingan (90:10; 70:30; 50:50; 30:70; 10:90) pada penetapan kadar PCT, PRO dan KOF pada sediaan tablet.
- Untuk dapat mengaplikasikan metode RKU dan RA pada penetapan kadar PCT, PRO dan KOF pada sediaan tablet.

- c. Untuk dapat mengetahui apakah metode RKU dan RA memenuhi syarat validasi metode.

Manfaat Penelitian

Diharapkan metode hasil pengembangan dari penelitian ini dapat menjadi salah satu metode yang dapat diaplikasikan oleh instansi terkait untuk menentukan kadar PCT, PRO dan KOF dalam sediaan tablet.

2. RESEARCH METHOD

Penelitian ini bersifat eksperimental yang akan dilakukan pada bulan Maret 2018 sampai Juni 2018 di Laboratorium Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.

Alat dan Bahan

Alat-alat

Spektrofotometer UV-Vis 1800 (Shimadzu) serta seperangkat *Personal Computer* (PC) yang dilengkapi dengan software UV-Probe 2.34, Microsoft Excel dan Minitab 2017, kuvet 1 cm, alat-alat gelas (Oberoi), lumpang dan alu, neraca analitik (Sartorius). Sonikator (Branson 1510).

Bahan-bahan

Semua pereaksi yang digunakan adalah *grade analysis* kecuali dinyatakan lain. PCT (Anqiu Lu'an Pharmaceutical Co. Ltd), PRO (Shandong Xinhua Pharmaceutical Co. Ltd), KOF (PT. Kimia Farma), metanol (E-Merck), akuabidestilata (PT. Ika Pharmindo), kertas saring whatman no.42, tablet P (PT. Konimex) dan tablet S (PT. Bayer Indonesia).

3. RESULTS AND ANALYSIS

Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Pelarut Kalium Dihidrogenfosfat 0,2 M

Dilarutkan 27,218 g kalium dihidrogenfosfat dalam akuabidestilata, dicukupkan volumenya hingga 1000 mL dengan akuabidestilata.

2. Pembuatan Pelarut Natrium Hidroksida 0,2 N

Dilarutkan 8 g natrium hidroksida dalam akuabidestilata, dicukupkan volumenya hingga 1000 mL dengan akuabidestilata.

3. Pembuatan Pelarut Dapar Posfat pH 7,2

Dicampurkan 50,0 mL kalium dihidrogenfosfat 0,2 M dengan 34,7 mL natrium hidroksida 0,2 N, diencerkan dengan akuabidestilata hingga 200 mL.

Optimasi Pelarut

Dilakukan optimasi dengan mengukur serapan yang dihasilkan oleh PCT, PRO dan KOF dalam metanol, dapar fosfat pH 7,2, campuran dapar posfat pH 7,2 dan metanol dengan perbandingan 90:10; 70:30; 50:50; 30:70; 10:90.

1. Pembuatan Larutan Induk Baku Parasetamol

Ditimbang dengan seksama 50 mg baku PCT kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, dicukupkan volumenya dengan pelarut sampai garis tanda (500 μ g/mL)(LIB I), kemudian dipipet 5 mL dari LIB I kedalam labu ukur 100 mL dan ditambah pelarut hingga garis tanda (25 μ g/mL) (LIB II).

2. Pembuatan Larutan Induk Baku Propifenazon

Ditimbang dengan seksama 50 mg baku PRO kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, dicukupkan volumenya dengan pelarut sampai garis tanda (500 μ g/mL)(LIB I), kemudian dipipet 5 mL dari LIB I kedalam labu ukur 100 mL dan ditambah pelarut hingga garis tanda (25 μ g/mL) (LIB II).

3. Pembuatan Larutan Induk Baku Kofein

Ditimbang dengan seksama 50 mg baku KOF kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, dicukupkan volumenya dengan pelarut sampai garis tanda (500 μ g/mL)(LIB I), kemudian dipipet 5 mL dari LIB I kedalam labu ukur 100 mL dan ditambah pelarut hingga garis tanda (25 μ g/mL) (LIB II).

4. Pembuatan Spektrum Serapan Parasetamol

Dipipet masing-masing 3; 4,5; 6; 7,5; 9; 10,5 mL dari LIB II kedalam labu ukur 25 mL, kemudian dicukupkan volumenya dengan menggunakan pelarut sampai garis tanda untuk mendapatkan larutan PCT konsentrasi 3; 4,5; 6; 7,5; 9; 10,5 μ g/mL secara berturut-turut. Dari larutan tersebut dibuat spektrum serapannya.

5. Pembuatan Spektrum Serapan Propifenazon

Dipipet masing-masing 5; 7,5; 10; 12,5; 15; 17,5 mL dari LIB II kedalam labu ukur 25 mL, kemudian dicukupkan volumenya dengan menggunakan pelarut sampai garis tanda untuk mendapatkan larutan PRO konsentrasi 5; 7,5; 10; 12,5; 15; 17,5 μ g/mL secara berturut-turut. Dari larutan tersebut dibuat spektrum serapannya.

6. Pembuatan Spektrum Serapan Kofein

Dipipet masing-masing 4,5; 6,5; 8,5; 10,5; 12,5; 13 mL LIB II kedalam labu ukur 25 mL, kemudian dicukupkan volumenya dengan menggunakan pelarut sampai garis tanda untuk mendapatkan larutan KOF konsentrasi 4,5; 6,5; 8,5; 10,5; 12,5; 13 µg/mL secara berturut-turut. Dari larutan tersebut dibuat spektrum serapannya.

7. Pembuatan Spektrum Serapan Campuran Parasetamol, Propifenazon, Kofein

Dibuat larutan campuran PCT, PRO dan KOF dengan cara dipipet 6 mL LIB II PCT, 10 mL LIB II PRO dan 8,5 mL LIB II KOF kedalam labu ukur 25 mL, kemudian dicukupkan volumenya menggunakan pelarut sampai garis tanda. Dari larutan tersebut dibuat spektrum serapannya.

8. Pembagian Spektrum Serapan Parasetamol, Propifenazon Dan Kofein Secara Double Divisor (Dua Pembagi) Pada Metode Rasio Absorbansi

Pembagian spektrum PCT dibagi dengan spektrum PRO 10 µg/ml dan spektrum KOF 8,5 µg/ml. Pembagian spektrum PRO dibagi dengan spektrum PCT 6 µg/ml dan spektrum KOF 8,5 µg/ml. Pembagian spektrum KOF dibagi dengan spektrum PCT 6 µg/ml dan PRO 10 µg/ml. Dilakukan pembagian dengan menggunakan bantuan software UV-probe.

9. Pembuatan Larutan Kalibrasi Pada Metode PCR

Dibuat larutan kalibrasi dengan memipet sejumlah tertentu larutan standar, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL, dilarutkan dengan pelarut sampai garis tanda. Larutan standar digunakan untuk mengatur konsentrasi kalibrasi dan validasi dengan nilai kisaran 3 – 10,5 µg/mL untuk PCT, 5 – 17,5 µg/mL untuk PRO dan 4,5 – 13 µg/mL untuk KOF yang diukur pada 200 - 400 nm.

Penetapan Kadar Campuran Parasetamol, Propifenazon Dan Kofein Pada Sediaan Tablet P

Ditimbang dan diserbukkan 20 tablet yang mengandung PCT 250 mg, PRO 150 mg dan KOF 50 mg. Timbang seksama sejumlah serbuk setara 50 mg PCT, dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL, dilarutkan dengan pelarut kurang lebih 25 mL, disonikasi selama 10 menit, kemudian ditambahkan dengan pelarut sampai garis tanda. Saring larutan dengan kertas saring Whatman® no.42, buang 10 mL filtrat pertama. Pipet 0,16 mL filtrat kedalam labu ukur 25 mL, kemudian ditambahkan dengan pelarut sampai garis tanda. Absorbansi kemudian diukur sesuai dengan prosedur hasil optimasi dengan menggunakan metode PCR dan RA.

1. Tahap Pengolahan Data Dengan Analisis Multivariat Pada PCR

Spektrum yang dihasilkan menunjukkan spektrum yang saling tumpang tindih, sehingga untuk memprediksi konsentrasi kandungan obat dalam campuran harus diolah dengan pengolahan data secara analisis multivariat. Data analisis berupa absorbansi pada panjang gelombang 200 – 400 nm dengan berbagai variasi konsentrasi dibentuk dalam sebuah matriks data. Matriks data diuji normalitasnya dengan uji normalitas kemudian diolah dengan metode pengolahan data secara analisis multivariat yaitu PCR menggunakan software Minitab 2017.

Validasi Metode

1. Linearitas, batas deteksi (*Limit of Detection, LOD*) dan batas kuantifikasi (*Limit of Quantification, LOQ*)

Dipipet masing-masing 3; 4,5; 6; 7,5; 9; 10,5 mL dari (25µg/mL) (LIB II) PCT kedalam labu ukur 10 mL, kemudian dicukupkan volumenya dengan menggunakan pelarut sampai garis tanda untuk mendapatkan konsentrasi larutan PCT 3; 4,5; 6; 7,5; 9; 10,5 µg/mL.

Dipipet masing-masing 5; 7,5; 10; 12,5; 15; 17,5 mL dari (25µg/mL) (LIB II) PRO kedalam labu ukur 10 mL, kemudian dicukupkan volumenya dengan menggunakan pelarut sampai garis tanda untuk mendapatkan konsentrasi larutan PRO 5; 7,5; 10; 12,5; 15; 17,5 µg/mL.

Dipipet masing-masing 4,5; 6,5; 8,5; 10,5; 12,5; 13 mL dari (25µg/mL) (LIB II) KOF kedalam labu ukur 10 mL, kemudian dicukupkan volumenya dengan menggunakan pelarut sampai garis tanda untuk mendapatkan konsentrasi larutan KOF 4,5; 6,5; 8,5; 10,5; 12,5; 13 µg/mL.

Larutan-larutan diatas dilihat serapannya pada λ analisis masing-masing zat yang telah ditentukan. Kemudian dilakukan analisis hubungan antara konsentrsi dengan serapan untuk masing-masing zat, sehingga didapat persamaan regresi linear dan juga nilai korelasinya.

$$y = a + bx$$

Berdasarkan absorbansi pada λ analisis dilakukan pula perhitungan LOD dan LOQ.

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (Y - Y_i)^2}{n - 2}}$$

$$\text{LOD} = \frac{3,3 \times \text{SD}}{\text{slope}}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times \text{SD}}{\text{slope}}$$

Keterangan :

SD = *Standard Deviation*

Slope = b ($y=ax+b$).

2. Uji Perolehan Kembali

Uji perolehan kembali dilakukan dengan pengukuran persentase perolehan kembali pada tiga rentang spesifik, yakni: 80%, 100% dan 120%. Dimana pada masing-masing rentang spesifik digunakan 70% sampel (PCT, PRO dan KOF) yang dianalisis dan 30% berasal dari baku yang ditambahkan. Kemudian campuran sampel (tablet) dan baku dianalisis dengan prosedur yang sama seperti pada sampel. Persentase perolehan kembali dihitung menggunakan rumus:

$$Y = \frac{C_F - C_A}{C_A^*} \times 100\%$$

Keterangan:

Y = Persentase perolehan kembali

C_F = Jumlah analit yang terukur

C_A = Jumlah analit dalam sampel (70% berasal dari sampel)

C_A^* = Jumlah bahan baku yang ditambahkan (30% berasal dari baku)

3. Pengujian Presisi

Presisi dinyatakan dengan SD atau RSD dari serangkaian data. Untuk mencari RSD menggunakan rumus :

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

Keterangan:

RSD = *Relative standard deviation*

SD = *Standard deviation*

X = Data yang telah dirata-ratakan

4. Analisis Data Secara Statistik

Uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji t, menggunakan rumus:

$$t_{\text{hitung}} = \frac{\bar{X} - \bar{X}}{\text{SD}/\sqrt{n}}$$

kadar sebenarnya dengan taraf kepercayaan 99%, dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\mu = \bar{X} \pm t\left(\frac{1}{2}\alpha\right)_{dk} \times \frac{\text{SD}}{\sqrt{n}}$$

Keterangan :

μ = interval kadar sebenarnya

\bar{X} = kadar rata-rata sampel

X = kadar sampel

t = harga t tabel sesuai dengan $dk = n-1$

dk = derajat kebebasan (n-1)

α = tingkat kepercayaan

SD = standar deviasi

n = jumlah perlakuan

4. CONCLUSION

Uji perolehan kembali dilakukan dengan pengukuran persentase perolehan kembali pada tiga rentang spesifik, yakni: 80%, 100% dan 120%. Dimana pada masing-masing rentang spesifik digunakan 70% sampel (PCT, PRO dan KOF) yang dianalisis dan 30% berasal dari baku yang ditambahkan. Kemudian campuran sampel (tablet) dan baku dianalisis dengan prosedur yang sama seperti pada sampel.

REFERENCES

- Abdel-Hay, M., Azza, A. G., Ekran, M.H., and Tarek, S.B. (2008). Derivative and Derivative Ratio Spectrophotometric Analysis of Antihypertensive Ternary Mixture of Amiloride Hydrochloride, Hydrochlorothiazide and Timolol Maleate. *Journal of The Chinese Chemical Society*. Vol 55 (01): 971.
- Adupa, S., Adupa, Sr., Simhadri, H., and Kalidindi, S.V. (2014). Simultaneous Estimation of Paracetamol, Caffeine and Propyphenazone in Bulk and Pharmaceutical Dosage Form by RP-HPLC. *Journal of Pharmacy Research*. Vol. 8(3): 331 – 335.
- Aktas, A, H and Kitis, F. (2014). Spectrophotometric Simultaneous Determination of Caffeine and Paracetamol Commercial Pharmaceutical by Principal Component Regression, Partial Least Squares and Artificial Neural Networks Chemometric Methods. *Coartica Chemica Acta*. Vol. 87(01) : 69 – 74.
- Appasaheb, H.S., Subhash, K.P., Atmaram, D.V., and Shankar, D.P. (2013). Simultaneous Estimation and Validation of Paracetamol, Chlorpheniramine Maleate and Phenylephrine Hydrochloride in Bulk and Tablet Dosage Form By Using Different Spectrophotometric Method. *International Research Journal of Pharmacy*. Vol 4(10): 39-43.
- Bagary, R, I, Kady, E, F and Matari, A, A. (2017). Simultaneous Spectrophotometric Determination of Diclofenac Sodium, Paracetamol and Chlorzoxazone in Ternary Mixture Using Chemometric and Artificial Neural Networks Techniques. *Asian Journal Of Pharmaceutical Clinical Research*. Vol. 10 (11) : 225 – 230.
- Chitlange, S, S., Soni, R., Wankhede, S, B and Kulkarni, A, A (2009). Spectrophotometric Methods for Simultaneous Estimation of Dexibuprofen and Paracetamol. *Asian J. Research Chem*. Vol. 02(01) : 30 – 33.
- Dachriyanus, (2004). *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Padang: Andalas University Press, Hal. 8-9.
- Day, R.A., and Underwood, A.L. (1998). *Quantitative Analysis*. Sixth Edition. Penerjemah: Sopyan, I. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Edisi Keenam. Jakarta: Erlangga. Hal. 396,399.
- Delvadiya, K., Kimbahune, R., Kabra, P., Sunil, K., and Patel, P. (2011). Spectrophotometric Simultaneous Analysis of Paracetamol, Propyphenazone and Caffeine in Tablet Dosage Forms. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. Vol. 3 (3): 170- 174.
- Depkes RI. (1995). *Farmakope Indonesia*. Edisi Keempat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 254, 649, 1067.
- Depkes RI. (1979). *Farmakope Indonesia*. Edisi Ketiga. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 742.
- Dzulfiyanto, A. (2015). *Analisis parasetamol, kofein dan propifenazon dengan metode spektrofotometri UV dan kemometrika tanpa tahap pemisahan*. Yogyakarta. Skripsi. Universitas Sanata Dharma. Hal. 1.
- Ermer, J and John, H. M. M. (2005). *Method Validation in Pharmaceutical Analysis*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH dan Co. KgaA. Hal 3-19
- Gandjar, I. G ., dan Rohman, A. (2012). *Analisis Obat secara Spektrofotometri dan Kromatografi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. Hal. 64, 92.
- Ganesh, K. D., Chimkode, R. M., Gaurav, K., Yogesh, K., Rohini, K., Anita, G., and Ashwini, K. (2015). Development and Validation of UV- Visible Spectrophotometric Methods For the Estimation of Paracetamol and Diclofenac Sodium in Bulk and Tablet Dosage Form. *International journal of pharmaceutical research and education*. Vol. 5 :52.
- Gohel, R. V., Parmar, S. J., and Patel, B. A. (2014). Development and Validation of Double Divisor Ratio Spectra Derivative Spectrophotometric Method for Simultaneous Estimation of Olmesartan Medoxomil, Amlodipin Besylate and Hydrochlorothiazide in Tablet Dosage Form. *International Journal of Pharm Tech Research*. 06 (05): 1518-1525.
- Guidline. (2005). *Validation of Analytical Procedures : Text and Methodology Q2 (R1)*. USA. Hal. 6-13
- Kamal. A.H., El-Malla. S.F., and Hammad. S.F. (2016). A Review On UV Spectrophotometric Methods For Simultaneous Multicomponent Analysis. *European journal pharmaceutical and medical research*. Vol. 3(2), 348-360.
- Khopkar, S.M. (1990). *Basic Concepts of Analytical Chemistry*. Penerjemah: Saptoraharjo, A., dan Nurhadi, A. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI-Press. Hal. 215.
- Lotfy, H.M., and Saleh, S.S. (2016). Recent Development in Ultraviolet Spectrophotometry Through The Last Decade (2006 – 2016): A Review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol. 8(10): 232.
- Moffat, A.C., Osselton, M.D and Widdop, B. (2004). *Clarke's Analysis of Drug And Poisons*. Third Edition. London: Pharmaceutical Press. Electronic version. Hal. 686, 688.

- Moffat, A.C., Osselton, M.D and Widdop, B. (2011). *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*. Fourth Edition. London: Pharmaceutical Press. Hal. 1337, 2138.
- Muchlisyan dan Pardede, T.R. (2016). *Spektrofotometri dan Analisis Multikomponen Obat*. Medan: USU Press. Hal. 7, 8, 12, 29, 31, 32, 35, 36.
- Mulja, M., dan Suharman. (1995). *Analisis Instrumental*. Surabaya: Airlangga University Press. Hal. 34, 52.
- Naid, T., Kasim, S. dan Pakaya, M. (2011), Penetapan Kadar Parasetamol dalam Tablet Kombinasi Parasetamol dengan Kafein Secara Spektrofotometri Ultraviolet sinar tampak. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. Vol. 15 : 77 – 82.
- Pandey, G and Mishra, B. (2013). A New Analytical Q- Absorbance Ratio Method Development and Validation for Simultaneous Estimation of Lamivudine and Isoniazid. *Hindawi*. Vol. 2013.Hal. 1-5.
- Prajapati, P.R., Rathod, D. N., Modi, V. S., and Basuri, T. (2016). Chemometric and its Applications in UV Spectrophotometry. *International Journal of Pharmaceutical Chemistry and Analysis*. Vol. 3(1), 43-48.
- Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Cetakan Pertama. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. Hal. 224-233, 240-243.
- Rohman, A. (2014). *Statistika dan Kemometrika Dasar Dalam Analisis Farmasi*. Cetakan Pertama. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. Hal. 245.
- Saraan, S.M.D., Sinaga, S.M., and Muchlisyan (2015). Development Method for Determination of Ternary Mixture of Paracetamol, Ibuprofen and Caffeine in Tablet Dosage Form Using Zero-crossing Derivative Spectrophotometric. *International Journal of PharmTech Research*. Vol. 7. No. 2, 349-353.
- Satiadarma, K., Mulja, H.M., Tjahjono, D.H., dan Kartasasmita, R.E. (2004). *Asas Pengembangan Prosedur Analisis*. Edisi Pertama. Surabaya: Airlangga University Press. Hal. 46-47.
- Sianipar, A. Y. (2017). *Aplikasi dan Validasi Metode Spektrofotometri Ultraviolet Secara Spektrofotometri Derivatif dan Mean Centering of Ratio Spectra Terhadap Ternary Mixture yang Mengandung Parasetamol, Propifenazon dan Kafein*. Tesis. Medan: Universitas Sumatera Utara. Hal. 1.
- Simanjuntak, H.L dan Putra, E.D.L. *Penetapan Kadar Simultan Binary Mixture Parasetamol dan Kafein dalam Sediaan Tablet secara Spektrofotometri Ultraviolet dengan Metode Mean Centering of Ratio Spectra (MCR)*. Skripsi. Medan: Universitas Sumatera Utara. Hal. 64.
- Singh, G., Kumar, D., Sharma, D., Singh, M and Kaur, S. (2012). Q- Absorbance Ratio Spectrophotometric Method for the Simultaneous Estimation of Prednisolone and 5- Amino Salicylic Acid in Tablet Dosage Form. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Vol. 02(06) : 222 – 226.
- Soponar, F., Moise, G., Staniloae, D and David, V. (2013). Simultaneous Determination Of Paracetamol, Propyphenazone and Caffeine From Pharmaceutical Preparations in the Presence Of Related Substances Using a Validated HPLC-DAD Method. *Review Article*. 58 (4-5): 433-440.
- Tjay, T. H. dan Rahardja K. (2007). *Obat-obat Penting*. Edisi Keenam. Cetakan Pertama. Jakarta: Elex Media Komputindo. 664.
- Üstündag, O., Dinç, E., Özdemir, N and Tilkan, G. (2015). Comparative Application of PLS and PCR Methods to Simultaneous Quantitative Estimation and Simultaneous Dissolution Test of Zidovudine – Lamivudine Tablets. *Acta Chim Slov*. Vol. 62 :437 – 444.
- Vijayageetha, R and Shantha, A. (2017). Simultaneous Spectrophotometric Determination of Etoricoxib and Paracetamol in Tablets by Chemometric Methods. *European journal pharmaceutical and medical research*. Vol. 04(06) : 159 – 164.