Optimasi Analisis Etilen Glikol Menggunakan Metode HPLC

Aldo Fahmi Kurniawan[1], Budhi Oktavia*[2], Desy Kurniawati[3], Edi Nasra[4]

[1,2,3,4]*Departemen Kimia, Universitas Negeri Padang*
Jl. Prof. Hamka, Air Tawar, Padang, Sumatera Barat, Indonesia, 25131

*budhioktavia@fmipa.unp.ac.id

Abstract **—** Drugs are defined as substances that can cure a disease. A drug is said to have good effectiveness if the drug meets the requirements for determining the levels of active substances contained in the Indonesian Pharmacopoeia. In determining the level of a drug, a procedure that has good results and guaranteed accuracy and precision must be used. The HPLC method was chosen because it has high specificity and sensitivity values, and has a fast analysis time. The purpose of this study was to determine the optimum conditions for ethylene glycol analysis and ethylene glycol levels in drug syrups based on the Indonesian Pharmacopoeia Edition VI. To ensure that the drug syrup preparation contains ethylene glycol, quantitative analysis was carried out by determining the drug levels using the HPLC method. From the results of the study, the optimum conditions for the HPLC method were obtained with a mobile phase of methanol: aquadest (10: 90) and a stationary phase of the ODS C18 column, no ethylene glycol levels were obtained in children's syrup drugs, it can be concluded that these levels meet the requirements in the Indonesian Pharmacopoeia Edition VI, namely ethylene glycol levels of no more than 0.1%.

Keywords **—** HPLC, ethylene glycol, syrup medicine

I. PENGANTAR

Obat diartikan sebagai suatu zat yang mempunyai kemampuan untuk menyembuhkan suatu penyakit. Suatu obat dikatakan efektif apabila memenuhi persyaratan penetapan kandungan bahan aktif dalam Farmakope Indonesia. Dalam menentukan konsentrasi obat, perlu digunakan prosedur yang memberikan hasil yang baik serta menjamin akurasi dan presisi [1]. Kombinasi obat dalam sediaan harus memenuhi persyaratan mutu, efektivitas, keamanan saat digunakan dan dianalisis untuk memastikan bahwa obat mengandung jumlah yang tepat agar tidak menimbulkan efek yang yang tidak diharapkan. Oleh karena itu, penentuan kadar etilen glikol diperlukan untuk mendapatkan metode analisis yang akurat dan tepat untuk menganalisis kandungan etilen glikol yang terdapat pada obat [2].

Etilen glikol adalah cairan jenuh yang larut sempurna dalam air, tidak berbau, tidak berwarna dan berasa manis. Di Indonesia, 97,34% bahan dasar industri poliester (tekstil) adalah etilen glikol. Sisanya sebesar 2,66% digunakan sebagai bahan baku tambahan untuk membuat tinta cetak, tinta ballpoint, antibeku, minyak rem, pelarut, cat dan foam stabilizer [3]. Karena potensi efek berbahaya, etilen glikol dan dietilen glikol tidak dapat digunakan dalam sediaan farmasi. Karena parasetamol dan beberapa komponen aktif lain dalam obat batuk diketahui sulit larut dalam air, maka resep obatnya menggunakan zat pelarut untuk meningkatkan kelarutan bahan aktif. Diantara pelarut yang sering digunakan dalam sediaan sirup adalah etanol, propilen glikol, gliserin, dan polietilen glikol. Karena pelarut ini dapat menimbulkan konsekuensi berbahaya jika konsentrasinya lebih tinggi dari yang diperbolehkan, maka penggunaannya dalam formulasi farmasi dibatasi [4]. Etilen glikol bersifat nefrotoksik setelah tertelan dalam waktu 24 hingga 72 jam. Etilen glikol yang masuk ke dalam tubuh akan menyebabkan kerusakan permanen pada epitel tubulus ginjal [5]. Jantung, otak, paru-paru, dan ginjal merupakan beberapa organ yang dapat mengalami kerusakan akibat keracunan etilen glikol. Kerusakan ginjal yang disebabkan oleh penumpukan kalsium oksalat di ginjal yang menyebabkan oliguria, anuria, dan gagal ginjal akut [6].

Pada penelitian kali ini dilakukan optimasi analisis pada etilen glikol dengan metode HPLC. Optimasi analisis etilen glikol dengan metode HPLC ini dapat diaplikasikan untuk mengetahui kadar cemaran etilen glikol yang terdapat pada sediaan produk obat sirup anak atau penggunaan secara ilegal pelarut etilen glikol pada obat sirup tersebut. Yang mana telah ditetapkan aturan pakai yang sesuai oleh Farmakope Indonesia yaitu kadar etilen glikol dan dietilen glikol tidak lebih dari 0,1% [7]. Etilen glikol umumnya ditemukan dalam pelarut farmasi dan aman konsumsinya di bawah ambang batas, namun bisa sangat beracun dan menyebabkan kerusakan ginjal [8]. Analisis pada kadar etilen glikol dalam hal ini dilakukan dengan menggunakan metode HPLC (*High Performance Liquid Cromatografi*) atau dikenal juga dengan istilah KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi). Analisis bahan tambahan pangan dalam hal ini yaitu etilen glikol, pada penelitian ini menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

Keuntungan analisis HPLC adalah kecepatan, sensitivitas, pemisahan yang baik, kemudahan penyiapan sampel, dan kemampuan untuk digabungkan dengan detektor yang sesuai. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi fase terbalik dengan kolom ODS C_{18} sebagai fase diam adalah pilihan untuk penelitian ini karena zat ini bersifat polar dan larut dalam air sehingga sulit dipisahkan menggunakan KCKT fase normal yang memakai kolom polar dan fase gerak non-polar [9].

II. METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah labu ukur, gelas piala, batang pengaduk, pipet ukur, gelas ukur, sonikator, *syringe*, penyaring PTFE, botol semprot, Spektrofotometer UV-Vis (SPECORD 210 PLUS - 223F1936C), mikropipet serta seperangkat alat instrumen yang digunakan pada penelitian ini yaitu HPLC (Compact LC G4288A – DE80700534). Bahan yang digunakan adalah etilen glikol (Merck KgaA), metanol (Merck KgaA), etanol (Merck KgaA), aquades dan sampel obat sirup anak.

B. Prosedur Kerja

1. Prosedur Secara Umum

Fasa gerak diinjeksikan dengan aliran 0,8 ml/menit, pada panjang gelombang yang telah ditentukan terlebih dahulu sehingga di dapat base line yang stabil. Setelah itu sampel diinjeksikan sebanyak 20 µL ke dalam kolom HPLC sehingga akan diperoleh data dalam bentuk kromatogram yang kemudian diambil untuk dianalisis.

2. Penetapan Panjang Gelombang Etilen Glikol

Larutan etilen glikol 99,8% tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang 200-700 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (SPECORD 210 PLUS - 223F1936C). Kemudian ditentukan panjang gelombang maximum untuk selanjutnya dilakukan pengukuran menggunakan HPLC (Compact LC G4288A – DE80700534).

3. Pembuatan Larutan Standar Etilen Glikol

Larutan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah larutan etilen glikol grade HPLC dengan konsentrasi 99,8%. Dipipet masing-masing sebanyak 1, 3, 5, 7 dan 9 ml larutan etilen glikol, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, lalu ditambahkan aquades hingga tanda batas. Homogenkan kemudian disonifikasi selama 10 menit. Sehingga didapatkan larutan standar dengan konsentrasi 9,98%, 29,94%, 49,9%, 69,86% dan 89,82%.

4. Penentuan Kondisi Optimum Untuk Penentuan Etilen Glikol Secara HPLC

a. Variasi Eluen

Eluen yang akan digunakan pada analisis ini yaitu berupa etanol : aquades dan metanol : aquades. Masing-masing komposisi eluen diuji pada HPLC (Compact LC G4288A – DE80700534). Dipilih campuran fasa gerak yang memberikan pemisahan terbaik berdasarkan waktu retensi (tR) dan luas puncak.

b. Variasi Konsentrasi Eluen

Larutan campuran bahan baku pembanding etilen glikol di dalam pelarut aquades, diinjeksikan sebanyak 20 µl ke dalam kolom menggunakan fasa gerak campuran metanol dan aquades dengan variasi 90:10; 70:30; 50:50; 30:70; 10:90. Dipilih komposisi eluen yang memberikan pemisahan terbaik berdasarkan waktu retensi (tR) dan luas puncak.

5. Penentuan Kurva Regresi Linier dari Larutan Standar Etilen Glikol

Larutan standar etilen glikol dengan variasi konsentrasi 9,98%, 29,94%, 49,9%, 69,86% dan 89,82% diinjeksikan sebanyak 20 µL ke dalam kolom HPLC menggunakan kondisi optimum analisa yang telah ditentukan sebelumnya. Kurva kalibrasi dibuat berdasarkan konsentrasi (%) dan luas puncak yang dihasilkan.

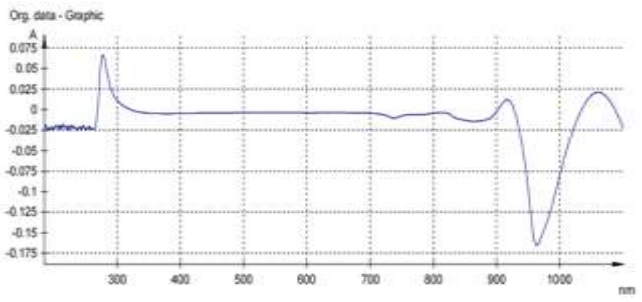
6. Penentuan Kadar Etilen Glikol Secara HPLC

Kondisi optimal yang telah diperoleh kemudian diaplikasikan pada analisis sampel. Menggunakan kondisi terpilih, 20 µl sampel diinjeksikan ke dalam kolom dan dicatat waktu tambat puncak-puncak yang dihasilkan sampel. Jika puncak-puncak tersebut mempunyai waktu tambat yang kurang lebih sama dengan waktu tambat puncak bahan baku pembanding, maka dapat disimpulkan bahwa pada sampel terdapat zat etilen glikol.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Penetapan Panjang Gelombang Etilen Glikol

Sebelum melakukan penelitian atau penentuan kondisi optimum untuk pemisahan etilen glikol menggunakan HPLC, terlebih dahulu dilakukan pengukuran panjang gelombang untuk senyawa etilen glikol menggunakan Spektrofotometer UV-Vis (SPECORD 210 PLUS - 223F1936C). Pengukuran panjang gelombang ini dilakukan karena HPLC yang digunakan memakai detektor UV-Vis, sehingga perlu diketahui terlebih dahulu berapa panjang gelombang dari senyawa etilen glikol. Pada pengukuran didapat panjang gelombang maksimum (λ max) untuk etilen glikol adalah 278 nm. Dimana hasil pengukuran untuk etilen glikol terlihat pada gambar di bawah ini.

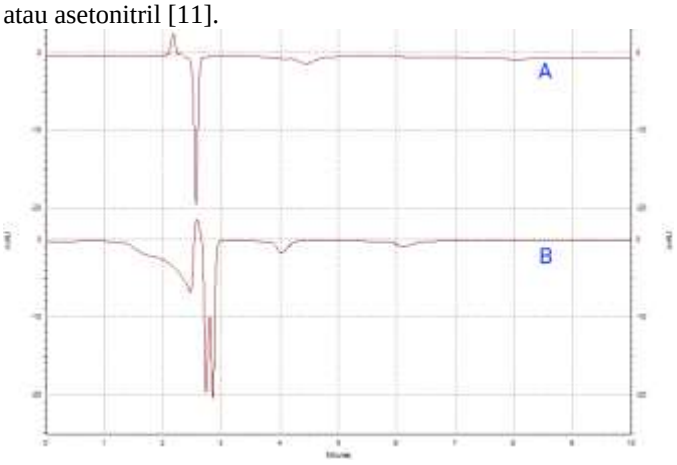


Gambar 1. Spektogram etilen glikol.

B. Variasi Eluen dan Konsentrasi Eluen

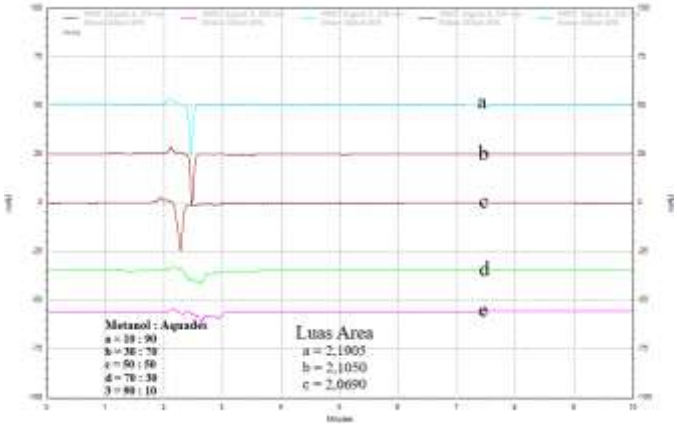
Dari kromatorgram terlihat bahwa puncak yang dihasilkan dengan menggunakan eluen metanol dan aquades memperoleh pemisahan komponen analit yang lebih baik. Sedangkan saat menggunakan eluen etanol dan aquades pemisahan komponen pada analit tidak begitu baik, karena dapat dilihat adanya puncak yang berdekatan terbentuk pada kromatogram. Pada

analisis HPLC, sering ditemukan beberapa permasalahan diantaranya puncak yang tidak terpisah dengan baik, terjadi pelebaran puncak kromatogram, serta sulit mencari kondisi yang optimum akibatnya waktu analisis menjadi lama dan penggunaan fase gerak lebih boros [10]. Pada penelitian ini menggunakan metode HPLC fase terbalik. Dasar dari HPLC fase terbalik adalah konsep interaksi hidrofobik. Analit berinteraksi dengan fase diam, yang umumnya merupakan permukaan nonpolar seperti oktadekilsilan (C18) fase diam yang terikat pada partikel silika. Analit kemudian dibawa melalui sistem oleh fase gerak yang polar, yang biasanya merupakan kombinasi air dan pelarut organik seperti metanol atau asetonitril [11].



Gambar 2. Kromatogram variasi eluen laju alir 0,8 ml/meit, λ = 278 nm, kolom ODS C-18, fasa gerak; A (metanol : aquades), B (etanol : aquades).

Sedangkan untuk variasi konsentrasi eluen yang digunakan, didapatkan kondisi optimum fasa gerak untuk analisis etilen glikol adalah Metanol : Aquades (10 : 90). Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada kromatogram berikut ini.



Gambar 3. Kromatogram variasi konsentrasi eluen metanol : aquades, dengan komposisi a (10:90), b (30:70), c (50:50), d (70:30) dan e (90:10).

Berdasarkan gambar, dengan komposisi eluen 70:30 dan 90:10 (metanol : aquades) peak yang dihasilkan tidak begitu baik. Untuk komposisi eluen metanol : aquades dengan perbandingan 10:90, 30:70 dan 50:50 menghasilkan kromatogram yang hampir sama, baik dari waktu retensi maupun puncak yang dihasilkan. Waktu retensi puncak etilen glikol yang didapat yaitu pada 2,51 menit.

Ketika waktu retensi senyawa yang dianalisis sangat berdekatan, kondisi ini menyulitkan identifikasi dan kuantifikasi yang akurat berdasarkan waktu retensi dan tinggi puncak saja. Pendekatan alternatif untuk mengatasi masalah ini yaitu, penggunaan luas area puncak (peak area) dan deteksi pada beberapa panjang gelombang berbeda untuk meningkatkan akurasi analisis [12]. Untuk itu dilakukan perhitungan luas area untuk menentukan komposisi eluen yang paling baik. Berdasarkan luas area, komposisi eluen metanol : aquades dengan perbandingan 10:90 merupakan kondisi komposisi eluen yang paling optimum, dimana luas area yang dihasilkannya adalah 2,1905.

C. Analisis Kadar Etilen Glikol Kondisi Optimum Secara HPLC

Berdasarkan kondisi optimum yang telah diperoleh pada variasi fasa gerak metanol : aquades, maka dilakukan pengukuran larutan standar etilen glikol dengan beberapa konsentrasi, dimana hasil pengukuran dapat terlihat pada tabel di bawah ini.

TABEL I
STANDAR LARUTAN ETILEN GLIKOL

(%)	Konsentrasi (%)		
	Tinggi Puncak (mAU)	Lebar Puncak (menit)	Luas Puncak (mAU x menit)
9,98	0,5986	0,2858	0,0855
29,94	13,1271	0,2018	1,3248
49,9	14,5558	0,3198	2,3272
69,86	25,3375	0,2625	3,3260
89,82	25, 5164	0,3382	4,3152

Selanjutnya dilakukan perhitungan untuk mendapatkan kurva linier dan persamaan regresi linier seperti pada gambar di bawah ini.

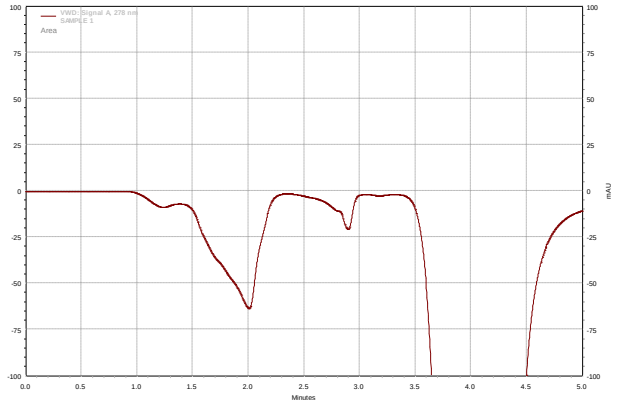


Gambar 4. Kurva standar etilen glikol, laju alir 0,8 ml/menit, eluen metanol:aquades (10:90), kolom ODS C-18.

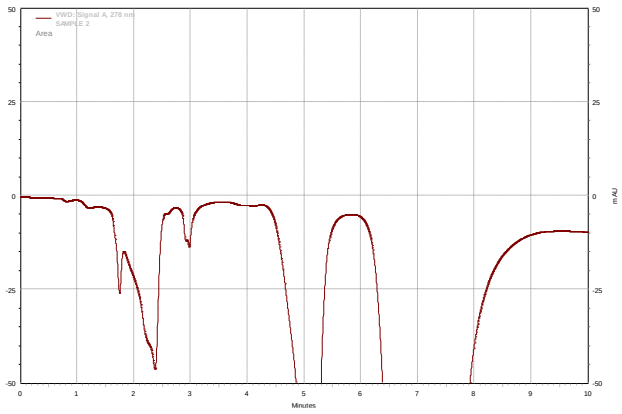
Dari kurva standar etlien glikol didapatkan persamaan regresi linier y = 0,05241x – 0,3394 dan R^2 = 0,9978. Nilai R^2 yang didapatkan lebih dari 0,990 atau mendekati 1 [13]. Maka selanjutnya dapat diaplikasikan untuk analisa kadar etilen glikol pada sampel.

D. Pengaplikasian Analisis Etilen Glikol Kadar Etilen Glikol Pada Obat Sirup Anak

Setelah didapatkan kondisi optimum untuk analisa etilen glikol menggunakan HPLC (Compact LC G4288A – DE80700534), maka diaplikasikan melalui pengukuran sampel obat sirup anak. Dari 2 sampel yang diuji, tidak menunjukkan adanya zat etilen glikol yang terkandung pada sampel. Hal ini dapat dilihat dari kromatogram hasil pengukuran, bahwa peak serta waktu tambat yang dihasilkan kedua sampel tidak sama dengan standar etilen glikol. Berikut gambar kromatogram dibawah ini.



Gambar 5. Kromatogram sampel 1 obat sirup anak, laju alir 0,8 ml/menit, eluen metanol : aquades (10 : 90), kolom ODS C-18.



Gambar 6. Kromatogram sampel 2 obat sirup anak, laju alir 0,8 ml/menit, eluen metanol : aquades (10 : 90), kolom ODS C-18.

Berdasarkan pengujian pada kedua sampel obat sirup anak yang telah diuji tidak ditemukannya kadar zat etilen glikol, maka obat sirup anak tersebut dapat dikonsumsi dengan aman karena sesuai dengan aturan Farmakope Indonesia, yaitu kadar etilen glikol dalam sediaan sirup tidak lebih dari 0,1% [14].

IV. KESIMPULAN

Kondisi optimum analisa etilen glikol dengan metode HPLC (Compact LC G4288A – DE80700534) dilakukan dengan fasa terbalik. Dilakukan analisa etilen glikol pada kondisi panjang gelombang 278 nm, laju alir 0,8 ml/menit, fasa diam kolom ODS C18 dan fasa gerak metanol aquades dengan komposisi 10:90. Setelah dilakukan pengaplikasian pada sampel, tidak terdapat kadar etilen glikol. Sampel obat sirup anak yang telah diuji, aman untuk dikonsumsi karena telah sesuai dengan aturan Farmakope Indonesia.

REFERENSI

[1] N. L. Rahmawati, A. Al-Bari, and A. Basith, “Pentapan Kadar Parasetamol Pada Sediaan Sirup Obat Dengan Menggunakan Metode HPLC (High Performance Liquid Chromatography),” vol. 1, no. 1, pp. 1–23, 2023.

[2] Z. L. . Sarmento, O. S. . Rangdi, C. De Sena, Bernilda M, and K. N. . Dewi, “Penetapan Kadar Parasetamol dan Kafein dengan Metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC),” *Cakra Kim. Indones. E-Journal Apllied Chem.*, vol. 8, no. 2, pp. 99–104, 2020.

[3] N. Qurtubi, “Pengaruh Penambahan Etilen Glikol, Suhu Pemanasan dan Waktu Pemanasan Terhadap Nilai Resistensi Pola Konduktif,” *Fac. Math. Sci. > Chem. > 47201-(S1) Undergrad. Thesis*, 2017, [Online]. Available: http://repository.its.ac.id/id/eprint/3366

[4] BPOM RI, *Seri Buku Saku Penanganan Kasus Cemaran Etilen Glikol dan Dietilen Glikol (EG/DEG) Dalam Sirop Obat Jilid I : Kajian Resiko Etilen Glikol dan Dietilen Glikol (EG/DEG) Dalam Sirop Obat*. 2023.

[5] M. Vikram, Magfirah, and A. Wulandari, “Uji Efek Nefroterapi Ekstrak Etanol Daun Pepolo (Bischofia Javanica Blume) Terhadap Kadar Kreatinin Dan Ureum Tikus Putih Jantan (Rattus Norvegicus) Yang Diinduksi Etilen Glikol,” *Farmakol. J. Farm.*, vol. 18, no. 1, pp. 45–55, 2021, [Online]. Available: http://www.jfarma.org/index.php/farmakologika/article/view/141

[6] S. Ma’sum, “Uji Aktivitas Penghambta Batu Ginjal dari Ekstrak Etanol 70 % Daun Kapuk Randu (ceiba pentandra L. gaertn) Pada Tikus Putih Jantan,” 2013.

[7] Depkes RI, *Farmakope Indonesia Edisi VI 2020 Kementrian Kesehatan Republik Indonesia*, VI. Jakarta, 2020.

[8] A. N. Fitriani and E. Amalia, “Aktivitas Nefroprotektif Tanaman Herbal Yang Diinduksi Etilen Glikol,” vol. 16, pp. 213–221, 2023.

[9] B. Oktavia, N. Rahmi, and N. Z, “Penentuan Kadar Etanol Pada Sampel Minuman dengan Metoda HPLC Menggunakan Fasa Gerak Asetonitril dan Buffer Fosfat,” *Periodic*, vol. 2, no. 1, pp. 51–56, 2013, [Online]. Available: http://ejournal.unp.ac.id/index.php/kimia/article/view/2373

[10] Rosydiati and E. K. Saleh, “Karakterisasi puncak kromatogram dalam High Performance Liquid Chromatography (HPLC) terhadap perbedaan fase gerak, laju alir, dan penambahan asam dalam analisis Indole Acetic Acid (IAA),” *Kandaga*, vol. 1, no. 2, pp. 65–73, 2019.

[11] S. Basak and P. Das, “Reverse Phase High - performance Liquid Chromatography : A Comprehensive Review of,” pp. 83–92, 2025, doi: 10.4103/jpdtsm.jpdtsm.

[12] L. Mizzi, C. Chatzitzika, R. Gatt, and V. Valdramidis, “HPLC analysis of phenolic compounds and flavonoids with overlapping peaks,” *Food Technol. Biotechnol.*, vol. 58, no. 1, pp. 12–19, 2020, doi: 10.17113/ftb.58.01.20.6395.

[13] Y. D. Anggraini, K. Anwar, and A. Budiarti, “Analisis Kadar Hidrokuinon dan Asam Kojic Dalam Tiga Merek Dagang Body Lotion Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Analysis of Hydroquinone and Kojic Acid Content in Three Brand Body Lotions Using High Performance Liquid Chromatography,” *J. Ilm. Sains*, vol. 23, no. 1, pp. 20–30, 2023, [Online]. Available: https://doi.org/10.35799/jis.v23i1,45703

[14] Depkes RI, *FARMAKOPE INDONESIA EDISI VI 2020 KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA*. 2022.