

Optimasi Metode Ekstraksi Fase Padat Dan Kckt Untuk Analisis Kuantitatif Bahan Kimia Obat Parasetamol Dan Deksametason Dalam Jamu Pegal Linu

¹Dewi Sartika, ²Hilda Aprilia Wisnuwardhani, dan ³Bertha Rusdi
^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas MIPA, Unisba, Jl. Tamansari No. 1 Bandung 40116
e-mail: [¹dewiniyaladewi@gmail.com](mailto:dewiniyaladewi@gmail.com), [²hilda.aprilia@gmail.com](mailto:hilda.aprilia@gmail.com),
[³bertharusdi78@gmail.com](mailto:bertharusdi78@gmail.com)

Abstrak: Telah dilakukan penelitian mengenai isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dari tumbuhan lamun (*Cymodocea rotundata* Ehrenberg & Hemprich ex Ascherson). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi (etanol 95%) dengan rendemen ekstrak sebesar 17,29% menghasilkan ekstrak kental sebanyak 121 gram. Fraksinasi dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan air. Terhadap fraksi etil asetat dilakukan subfraksinasi dengan kromatografi cair vakum dengan sistem elusi landaian. Dilanjutkan dengan pemurnian menggunakan KLT preparatif dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksan : etil asetat (6:4) hingga diperoleh isolat. Isolat dilakukan karakterisasi dengan spektrofotometri ultra ungu - sinar tampak yang menunjukkan 2 puncak serapan pada panjang gelombang 275 nm dan 327 nm. Karakterisasi dilanjutkan dengan menggunakan pereaksi geser NaOH. Berdasarkan karakterisasi isolat, maka dapat disimpulkan bahwa isolat adalah senyawa flavonoid golongan isoflavon.

Kata kunci : Lamun, *Cymodocea rotundata*, isolasi, flavonoid.

A. Pendahuluan

Latar Belakang

Obat tradisional merupakan warisan budaya bangsa yang perlu terus dilestarikan dan dikembangkan untuk menunjang pembangunan kesehatan sekaligus untuk meningkatkan perekonomian rakyat. Hingga saat ini penggunaan obat tradisional di Indonesia masih sangat diminati dan terus berkembang di masyarakat. Meningkatnya kebutuhan masyarakat akan obat tradisional menyebabkan bertambahnya industri yang bergerak di bidang obat tradisional. Persaingan yang cukup ketat membuat para pelaku usaha berlomba untuk membuat produk yang memiliki efek cepat. Salah satu kecurangan yang dilakukan oleh produsen yaitu dengan menambahkan bahan kimia obat (BKO) ke dalam produk jamu yang mereka buat.

Identifikasi Masalah

Berdasarkan peraturan kementerian kesehatan (Permenkes) nomor 007 tahun 2012, dijelaskan bahwa obat tradisional dilarang mengandung etil alkohol lebih dari 1%, kecuali dalam bentuk sediaan tingtur yang pemakaiannya dengan pengenceran, bahan kimia obat yang merupakan hasil isolasi atau sintetik berkhasiat obat, narkotika atau psikotropika, dan/atau bahan lain yang berdasarkan pertimbangan kesehatan dan/atau berdasarkan penelitian membahayakan kesehatan.

Badan pengawas obat dan makanan (BPOM) telah menemukan berbagai kasus penambahan BKO pada jamu. Salah satu jamu yang pernah ditemukan mengandung BKO yaitu jamu pegal linu. Metode yang digunakan oleh BPOM untuk menganalisis BKO pada jamu yaitu menggunakan KLT. Metode tersebut digunakan untuk analisis BKO dalam sediaan jamu secara kualitatif saja, sehingga perlu dikembangkan metode analisis kuantitatif untuk parasetamol dan deksametason dalam jamu pegal linu.

Tujuan Penelitian

Berdasarkan masalah tersebut maka pada penelitian ini dilakukan pengembangan metode analisis kadar BKO dalam jamu pegal linu dengan menggunakan ekstraksi fase padat dan KCKT. Dengan diperolehnya metode untuk analisis kadar BKO dalam jamu, maka akan memudahkan pemantauan penggunaan BKO pada jamu pegal linu dan diharapkan ke depannya dapat digunakan untuk uji paparan terhadap penggunaan jamu ber-BKO.

B. Landasan Teori

Obat tradisional

Menurut peraturan menteri kesehatan nomor 007 tahun 2012 obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat.

Bahan-bahan ramuan obat tradisional seperti bahan tumbuh-tumbuhan, bahan hewan, sediaan sarian atau galenik yang memiliki fungsi, pengaruh serta khasiat sebagai obat, dalam pengertian umum kefarmasian bahan yang digunakan sebagai simplisia. Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang dikeringkan (Dirjen POM, 1999).

Menurut Keputusan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan (Kep KBPOM) tahun 2004 dengan nomor: HK.00.05.4.2411, berdasarkan cara pembuatan serta jenis klaim penggunaan dan tingkat pembuktian khasiat, obat bahan alam Indonesia dikelompokkan menjadi:

- Jamu
- Obat Herbal Terstandar
- Fitofarmaka

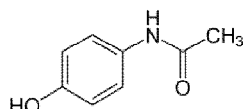
Bahan kimia obat

Bahan kimia obat merupakan senyawa kimia tunggal yang dapat memberikan efek farmakologi. BKO adalah senyawa sintesis atau produk kimiawi berasal dari bahan alam yang umumnya digunakan pada pengobatan modern. Pada umumnya BKO merupakan obat keras, contohnya deksametason. Apabila dikonsumsi berlebihan dan digunakan dalam jangka waktu yang panjang, BKO dapat memberikan efek samping bagi kesehatan tubuh.

- **Parasetamol**

Parasetamol merupakan obat analgetik non narkotik yang bekerja menghambat sintesis prostaglandin terutama di sistem syaraf pusat. Parasetamol merupakan obat yang aman dan efektif untuk pegal dan nyeri otot, dan demam akibat infeksi virus. Parasetamol dapat menimbulkan hepatotoksisitas karena sangat toksik terhadap sel hati apabila digunakan secara berlebihan dan dapat menimbulkan gangguan pada lambung apabila digunakan dalam jangka waktu lama (Kee, 1996).

Parasetamol memiliki berat molekul 151,16 g/mol dengan rumus molekul $C_8H_9NO_2$. Nama kimia parasetamol adalah N-asetil-4-aminofenol. Pemerian parasetamol yaitu serbuk hablur, putih, tidak berbau, rasa sedikit pahit. Kelarutan: larut dalam air mendidih dan dalam natrium hidroksida 1 N, mudah larut dalam etanol (FI IV, 1995).

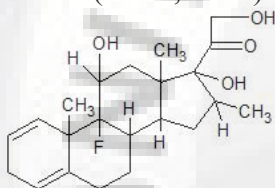


Gambar 1. Struktur kimia parasetamol

- **Deksametason**

Deksametason adalah glukokortikoid dengan aktivitas immunosupresan dan anti-inflamasi. Deksametason bekerja dengan menurunkan respon imun tubuh terhadap stimulasi rangsangan. Aktivitas anti-inflamasi deksametason dengan jalan menekan atau mencegah respon jaringan terhadap proses inflamasi dan menghambat akumulasi sel yang mengalami inflamasi, termasuk makrofag dan leukosit pada tempat inflamasi. Pada pemakaian dengan dosis berlebih dan jangka panjang, deksametason dapat menyebabkan aritmia, hipertensi, gagal jantung kongestif, dan gangguan penyembuhan luka (Omoigui, 1994).

Deksametason memiliki nama kimia 9 - fluoro - 11 β , 17, 21- trihidroksi- 16 α - metil prena- 1,4 diena- 3,20- dion dengan berat molekul 392,47 g/mol dan rumus molekul C₂₂H₂₉FO₅. Pemerian deksametason yaitu serbuk hablur, putih sampai praktis putih, tidak berbau, stabil di udara, melebur pada suhu lebih kurang 250⁰C disertai peruraian. Kelarutan: praktis tidak larut dalam air; agak sukar larut dalam aseton, dalam etanol, dalam dioksan, dan dalam metanol; sukar larut dalam kloroform; sangat sukar larut dalam eter (FI IV, 1995).



Gambar 2. Struktur kimia deksametason

1. **Ekstraksi fase padat**

Ekstraksi fase padat (EFP) atau yang lebih dikenal dengan solid phase extraction (SPE) merupakan metode pemisahan dimana senyawa yang terlarut atau tersuspensi dalam campuran cairan dipisahkan dari senyawa lain dalam campuran sesuai dengan sifat fisik dan kimianya. Ekstraksi fase padat digunakan untuk memekatkan dan memurnikan sampel untuk analisis.

Prinsip ekstraksi fase padat yaitu analit yang terlarut dalam suatu pelarut yang memiliki daya elusi rendah dimasukkan ke dalam cartridge dan kemudian akan terperangkap pada medium SPE. Analit tersebut kemudian dapat dibilas dengan pelarut lain yang berdaya elusi rendah dan kemudian akhirnya dielusi dengan pelarut berdaya elusi kuat bervolume kecil (Watson, 2010).

SPE dapat dibagi menjadi 4 berdasarkan jenis fase diam atau penjerap yang dikemas dalam cartridge, yakni fase normal (normal phase), fase terbalik (reversed phase), adsorpsi (adsorption) dan pertukaran ion (ion exchange). Pemilihan penjerap didasarkan pada kemampuannya berikatan dengan analit, dimana ikatan antara analit dengan penjerap harus lebih kuat dibandingkan ikatan antara analit dengan matriks sampel. Sehingga analit akan tertahan pada penjerap. Selanjutnya dipilih pelarut yang mampu melepaskan ikatan antara analit dengan penjerap pada tahap elusi. Adapun 4 langkah utama dalam penggunaan ekstraksi fase padat, yaitu pengondisian, retensi sampel, pencucian, dan elusi.

2. Kromatografi cair kinerja tinggi

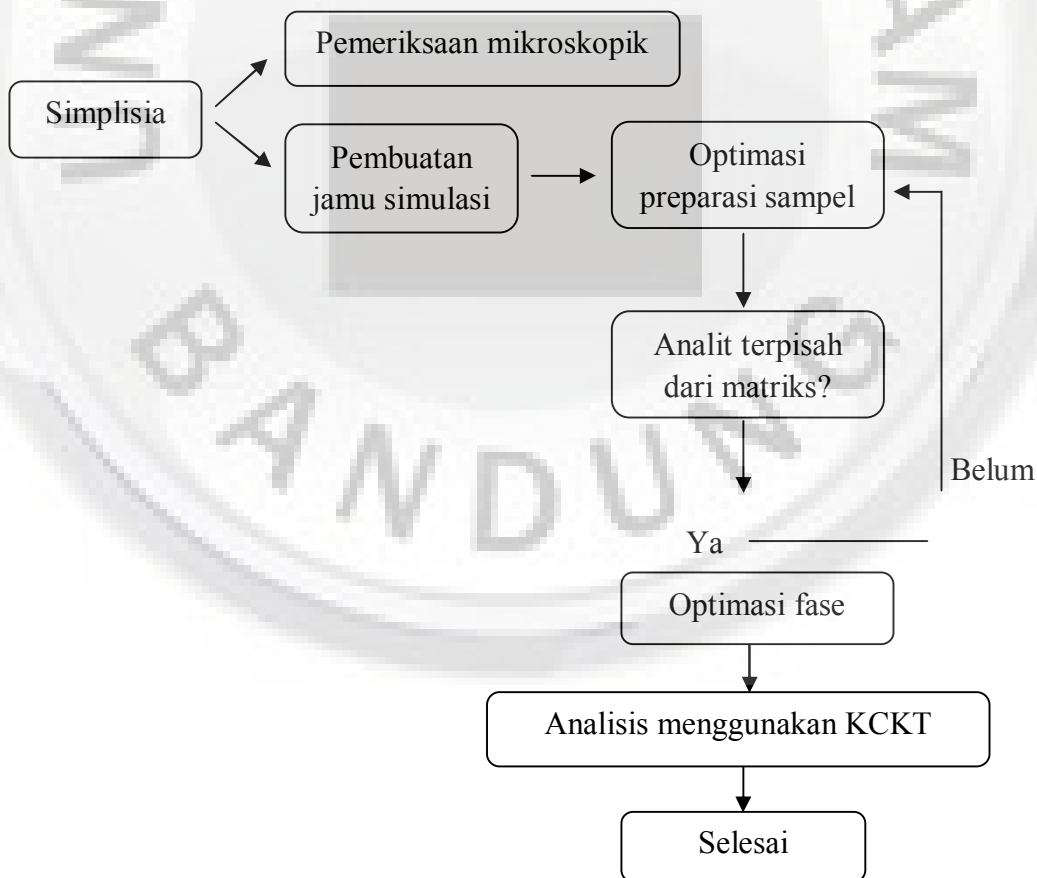
Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) yang juga dikenal dengan istilah High Performance Liquid Chromatography (HPLC) merupakan suatu teknik pemisahan yang didasarkan pada partisi sampel diantara suatu fasa gerak dan fasa diam yang berupa cairan maupun padatan dibantu dengan adanya tekanan tinggi sehingga analit lebih mudah dipisahkan untuk selanjutnya diidentifikasi dan dihitung berapa konsentrasi dari masing-masing komponen tersebut.

Prinsip kerja KCKT adalah pemisahan absorpsi dan desorpsi yang berulang kali dari komponen yang dipisahkan. Pemisahan ini terjadi karena adanya perbedaan kecepatan migrasi dari masing-masing komponen yang didasarkan oleh adanya perbedaan koefisien distribusi dari komponen tersebut antara kedua fasa. Selanjutnya komponen diidentifikasi secara kualitatif dan dihitung berapa konsentrasi dari masing-masing komponen tersebut secara kuantitatif.

C. Metodologi Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap, yaitu pembuatan jamu pegal linu simulasi, pemeriksaan mikroskopik (fragmen penanda), optimasi preparasi sampel ekstraksi fase padat dengan *cartridge* C-18 Merck, uji kualitatif dengan KLT, dan uji kuantitatif dengan KCKT.

Berikut adalah skema pengembangan metode analisis

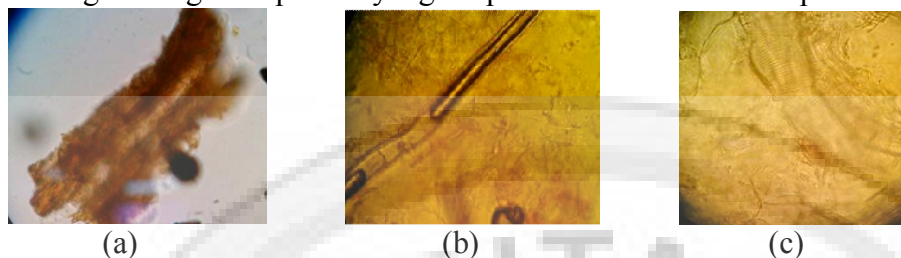


Gambar 3. Skema penelitian

D. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Pemeriksaan mikroskopik

Simplisia yang digunakan untuk penelitian dipastikan kebenarannya dengan dilakukan pemeriksaan secara mikroskopik fragmen-fragmen penanda pada masing-masing simplisia yang diperoleh dari Farmakope Herbal tahun 2008.



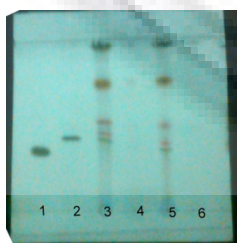
Gambar 4. Fragmen penanda (a) *Curcumae xanthorrhizae rhizoma*, (b) *Curcumae domesticae rhizoma*, (c) *Zingiberis officinalis rhizoma*, menggunakan pereaksi kloral hidrat pada perbesaran 400 x. Pembuatan jamu pegal linu simulasi

Sebanyak 1,75 g simplisia *Curcumae domesticae rhizoma*; 1,75 g simplisia *Curcumae xanthorrhizae rhizoma*; 1,5 g *Zingiberis officinalis rhizoma*; dicampur dan digerus di dalam mortar sehingga diperoleh campuran jamu simulasi dalam bentuk serbuk homogen.

Optimasi preparasi ekstraksi fase padat

Pada penelitian ini jamu simulasi (yang telah ditambahkan BKO) yang digunakan sebanyak 500 mg dan dilarutkan dalam metanol. Kemudian campuran disaring, filtratnya diambil. Sebelumnya dilakukan pengondisian kolom EFP C-18 berturut-turut dengan 6 mL metanol dan 6 mL aquadestilata. Sebanyak 1 mL sampel jamu simulasi dimasukkan ke dalam kolom EFP dan dibiarkan menetes perlahan. Kemudian kolom dicuci dengan larutan pencuci metanol dan aquadest (60:40). Kemudian analit dielusikan dengan metanol. Lalu dilakukan pemantauan menggunakan KLT dan uji kuantitatif KCKT.

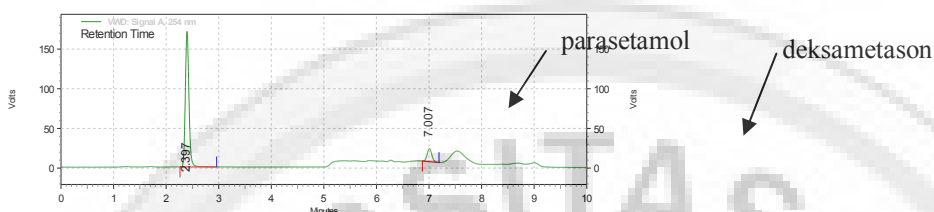
Digunakan pelarut metanol karena berdasarkan orientasi, dalam jumlah yang digunakan parasetamol dan deksametason masih dapat larut dalam metanol. Hasil yang didapat dari pemantauan KLT dapat dilihat pada gambar 5.



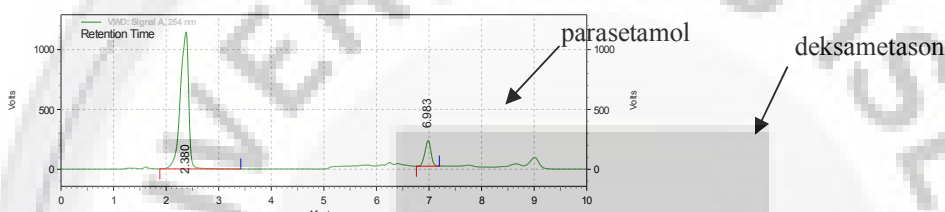
Gambar 5. Kromatogram lapis tipis, (1) standar kerja parasetamol, (2) standar kerja deksametason, (3) filtrat jamu simulasi, (4) larutan sisa retensi, (5) larutan pencuci, (6) hasil elusi, dilihat di bawah sinar UV λ 254 nm.

Untuk mengetahui ada atau tidaknya parasetamol dan deksametason, bercak yang timbul pada larutan hasil EFP dibandingkan dengan bercak standar kerja

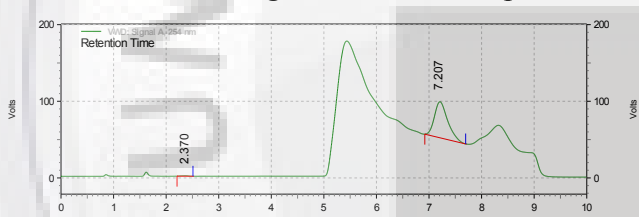
parasetamol dan deksametason. Dari kromatogram di atas menunjukkan bahwa parasetamol dan deksametason sudah dapat teretensi (tertahan) pada penjerap. Filtrat jamu simulasi yang di masukkan ke dalam *cartridge* sebanyak 1 mL. Tetapi dalam larutan hasil pencucian masih terdapat parasetamol, sedangkan dalam larutan hasil elusi tidak ada sama sekali parasetamol dan deksametason yang terelusi. Hal ini disebabkan karena sifat parasetamol dan deksametason yang semi polar, serta sifat metanol yang polar, maka kemungkinan parasetamol dan deksametason terbawa pada saat pencucian. Hal ini juga diperjelas pada kromatogram hasil KCKT, seperti yang tersaji dibawah ini:



Gambar 6. Kromatogram larutan sisa retensi sampel



Gambar 7. Kromatogram larutan hasil pencucian



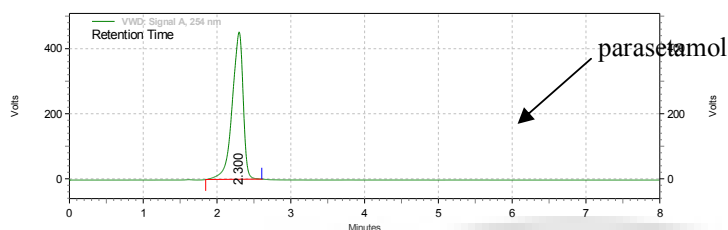
Gambar 8. Kromatogram larutan hasil elusi

Kromatogram hasil KCKT menunjukkan bahwa parasetamol dan deksametason kurang teretensi di fasa diam EFP dan pada saat pencucian pun ikut keluar sehingga pada larutan hasil elusi sudah tidak terdapat parasetamol dan deksametason. Hal ini menunjukkan bahwa hasil pengujian dengan KCKT selaras dengan hasil pengujian dengan KLT dan membuktikan pengujian dengan pelarut metanol kurang baik sehingga perlu dicari eluen lain yang sesuai.

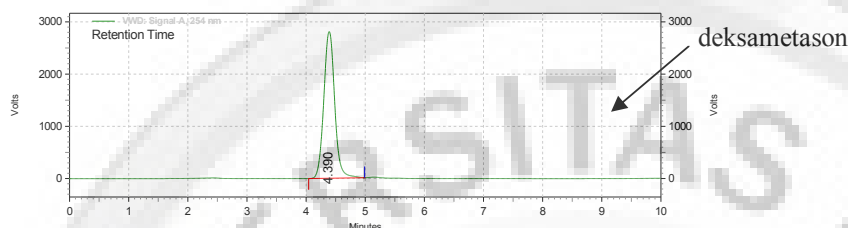
Optimasi sistem KCKT

Pada penelitian ini dilakukan optimasi sistem KCKT untuk mengetahui fase gerak yang sesuai untuk analisis parasetamol dan deksametason. Fase gerak yang digunakan yaitu antara aquabides-metanol dengan perbandingan yang berbeda-beda, yaitu 25:75, 75:25, 65:35, 40:60, 70:30, tipe elusi isokratik, dengan laju alir 1,5 mL/menit, detektor sinar uv 254 nm, dan kolom yang digunakan adalah kolom zorbax ODS 4,6 mm ID x 250 mm. Hasil yang diperoleh dari sistem yang diujikan menghasilkan puncak parasetamol dan deksametason yang baik tetapi dalam perbandingan fase gerak yang berbeda. Parasetamol memberikan puncak yang baik pada menit ke 2,300 dengan perbandingan fase gerak aquabides-metanol (60:40), sedangkan deksametason memberikan puncak yang baik pada menit ke 4,390 dengan

perbandingan fase gerak aquabides-metanol (25:75). Kromatogram hasil analisis dengan KCKT, tersaji sebagai berikut:



Gambar 9. Kromatogram parasetamol, komposisi eluen aquabides-metanol (60:40)



Gambar 10. Kromatogram deksametason, komposisi eluen aquabides-metanol (25:75)

E. Kesimpulan

Pada metode ekstraksi dengan EFP, parasetamol dan deksametason dapat terekstraksi dan teretensi dengan pelarut metanol, larutan pencuci metanol-akuades (60:40), dan larutan pengelusi metanol dengan jumlah sampel yang di masukkan sebanyak 1 mL, tetapi senyawa BKO masih ikut keluar pada saat pencucian *cartridge*. Kondisi KCKT yang paling baik untuk analisis parasetamol dan deksametason yaitu menggunakan kolom Zorbax ODS 4,6 mm ID x 250 mm (5 μ m), fase gerak aquabides-metanol, laju alir 1,5 mL/menit, detektor UV panjang gelombang 254 nm, dan tipe elusi isokratik.

Daftar Pustaka

- Badan POM RI. 2009. *Kumpulan Peraturan Perundang-undangan di Bidang Obat Tradisional*, Biro Hukum dan Humas.
- Buletin 910, *Guide to Solid Phase Extraction*, Supelco. 1998. Sigma Aldrich.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Depkes RI, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi Pertama*. Depkes RI, Jakarta.
- Gandjar, I. G dan Abdul, R. 2012. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Harmita. 2004. *Jurnal: Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. I, No.3, Desember 2004, 117-135. Departemen Farmasi FMIPA UI. Diakses melalui <http://journal.ui.ac.id/index.php/mik/article/view/1136/1043> pada tanggal 18 juni 2015 pukul 22.35 wib.

Kee, J. L dan Evelyn R. H. 1996. *Farmakologi Pendekatan Proses Keperawatan*. EGC, Jakarta.

Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan tentang Ketentuan Pokok Pengelompokan dan Penandaan Obat Bahan Alam Indonesia No. HK. 00.05.4.2411, tanggal 17 Mei 2004, diakses dari http://www.pom.go.id/pom/hukum_perundangan/pdf/penandaan_oai.pdf tanggal 24 november 2014 pukul 18.32 wib.

Muchtaridi. *Review Jurnal: SPE (Solid Phase Extraction) Teknik Terbaru Dalam Preparasi Sampel Analisis Obat dalam Sediaan Farmasi dan dalam Cairan Biologis*. Departemen Farmakokimia, Fakultas Farmasi UNPAD. Diakses melalui http://www.majabintang.com/phocadownload/SPE-CrossLab/jurnal%20spe%20teknik%20terbaru_mbi.pdf pada tanggal 22 november 2014 pukul 14.15 wib.

Omoigui, S. 1994. *Buku Saku Obat-Obatan Anastesia Edisi II*. EGC, Jakarta.

Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 007 Tahun 2012 Tentang Registrasi Obat Tradisional.

Putra, E. D. L. 2004. *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Dalam Bidang Farmasi*. Universitas Sumatera Utara, Sumatera.

Watson, D. G. 2010. *Analisis Farmasi: Buku Ajar Untuk Mahasiswa Farmasi Dan Praktisi Kimia Farmasi*. EGC, Jakarta.