BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Jamu

Jamu merupakan bahan atau ramuan bahan berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan dari jaman nenek moyang. Jamu biasa digunakan untuk pengobatan dan pencegahan penyakit tertentu maupun digunakan untuk pemeliharaan tubuh. Menurut Peraturan BPOM RI No. 25 tahun 2023 pasal 94 obat bahan alam dilarang mengandung:

A. Etil alkohol lebih dari 1%, kecuali dalam bentuk sediaan tingtur yang pemakaiannya dengan pengenceran;
B. Bahan kimia berkhasiat obat yang merupakan hasil isolasi atau sintetik berkhasiat obat;
C. Narkotika atau psikotropika;
D. Hewan atau tumbuhan yang dilindungi sesuai dengan ketentuan peraturan perundang - undangan;
E. Bahan tambahan, antara lain berupa pengawet, pewarna, pemanis, dan perisa dan bahan tambahan yang tidak sesuai dengan ketentuan peraturan perundang - undangan;
F. Bahan yang dilarang dan dibatasi digunakan dalam obat bahan alam sebagaimana tercantum dalam Lampiran VIII yang merupakan bagian tidak terpisahkan dari Peraturan Badan ini.

2.2. Jamu Pegal Linu

Pegal linu merupakan kondisi dimana otot-otot tubuh dalam keadaan tegang dan menyebabkan rasa lelah, capek, nyeri, atau pegal - pegal. Pegal linu dapat menyerang daerah leher, pundak, punggung, tangan dan kaki yang disebabkan aktivitas fisik yang berat atau melebihi kebiasaan (Novianti Cahaya, 2021). Oleh karena itu, jamu pegal linu merupakan salah satu jamu yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat terutama para pekerja berat. Jamu pegal linu berkhasiat dapat menghilangkan rasa pegal linu, capek, nyeri otot

dan tulang, memperlancar peredaran darah, memperkuat daya tahan tubuh, dan menghilangkan sakit seluruh badan (Indriatmoko et al., 2019).

2.3. Bahan Kimia Obat

2.3.1. Pengertian BKO

Menurut BPOM (2013), BKO merupakan suatu zat kimia yang digunakan sebagai bahan utama obat kimiawi dan biasanya ditambahkan dalam sediaan obat tradisional atau jamu dengan tujuan untuk memperkuat indikasi dari obat tradisional tersebut. Obat tradisional tidak diperbolehkan mengandung BKO yang merupakan hasil isolasi atau sintetik berkhasiat obat (Per. BPOM, 2023). Menurut temuan BPOM, BKO yang sering ditambahkan pada obat bahan alam sebagai berikut:

Tabel 2. 1 BKO yang ditemukan pada Obat Bahan Alam (Peraturan BPOM No.29 Tahun 2023)

Klaim Penggunaan Obat Tradisional	BKO yan sering ditemukan
Stamina Pria	Sildenafil sitrat, Vardenafil, Tadalafil
Membantu mengurangi lemak tubuh	Sibutramin,Furosemida, Bisakodil
Pegal linu/encok/rematik/ sakit pinggang/ asam urat	Deksametason, Fenilbutason dan Parasetamol
Flu/Pilek/Masuk Angin	Asam mefenamat, Fenilbutason, Parasetamol
Batuk/ Tenggorokan Sakit	Klorfeniramin maleat, Dekstrometorfan, Guaifenesin, Efedrin, dan Pseudoefedrin
Asma/sesak nafas	Efedrin dan Pseudoefedrin
Bahan Kimia Berkhasiat Obat pada Produk Jadi pada klaim lainnya	Identifikasi turunan/senyawa bahan kimia berkhasiat obat dilakukan berdasarkan analisis risiko

2.3.2. Identifikasi BKO Pada Produk Obat Tradisional

Adanya BKO dalam obat tradisional dapat dicurigai apabila produk diklaim dapat menyembuhkan bermacam - macam penyakit dan pada penggunaan cepat dirasakan pengaruh atau efeknya, dimana hal ini sangat jarang terjadi pada penggunaan obat bahan alam (BPOM, 2006). Identifikasi

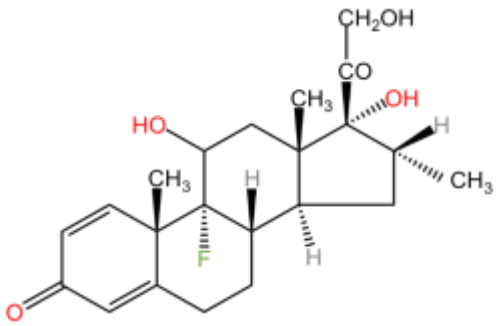
BKO menurut BPOM (2018), secara spesifik menggunakan uji laboratorium dengan metode KLT dan spektrofotodensitometri. Selain itu, identifikasi BKO juga dapat dilakukan dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi (Ryansyah, 2022).

2.4. Deksametason

2.4.1. Pengertian Deksametason

Deksametason adalah suatu bahan kimia obat kortikosteroid golongan glukokortikoid, dimana obat ini banyak digunakan sebagai obat anti inflamasi, anti alergi dan penyakit autoimun. Deksametason merupakan salah satu kortikosteroid sintesis terampuh. Kemampuannya dalam mengurangi peradangan dan alergi lebih baik dari yang dimiliki prednisone (Susanto, 2020).

2.4.2. Sifat Fisikokimia Deksametason



Gambar 2. 1 Struktur Molekul Deksametason

Deksametason memiliki nama senyawa 9-Fluoro-11 ,17,21-trihidroksi-16-metilpregna-1,4 diena-3,20-dion. Deksametason mengandung tidak kurang dari 97% dan tidak lebih dari 102% $C_{22}H_{29}FO_5$, dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Pemerian serbuk hablur, putih sampai praktis putih, tidak berbau, stabil di udara. Melebur pada suhu lebih kurang 250^0 disertai peruraian. Kelarutan deksametason agak sukar larut dalam aseton, etanol, dioksan, dan metanol: sukar larut dalam kloroform: sangat sukar larut dalam eter; praktis tidak larut dalam air. (Kemenkes RI, 2014).

2.4.3. Bahaya Deksametason

Deksametason bekerja dengan mengurangi peradangan dan menurunkan sistem kekebalan tubuh. Efek samping penggunaan deksametason yaitu dapat menimbulkan gangguan pertumbuhan pada anak-

anak, mempengaruhi pertumbuhan adrenal anak pada ibu hamil, diabetes, osteoporosis, gangguan mental, hipertensi, pretensu natrium dan cairan serta hipokalemia (BPOM, 2006).

2.4.4. Identifikasi Deksametason

Identifikasi deksametason menurut BPOM tahun 2018, menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dan spektrofotodensitometri. Metode KLT memiliki kelebihan yaitu sederhana, mudah dalam melakukan preparasi sampel dan tidak memerlukan biaya yang besar akan tetapi memiliki kekurangan yaitu hanya dapat mengetahui ada tidaknya senyawa yang terkandung dalam sampel tanpa mengetahui kadar senyawa tersebut (Lintang et al., 2024). Sedangkan spektrofotodensitometeri memiliki kelebihan yaitu biaya relatif murah dan menggunakan instrument yang sederhana akan tetapi metode ini memiliki kekurangan jika penotolan sampel dan proses elusi kurang baik dapat mempengaruhi hasil identifikasi (Wirasuta et al., 2014). Selain itu deksametason juga dapat diidentifikasi dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Metode KCKT sendiri memiliki kelebihan yaitu memberikan pemisahan cepat, efisien dan beresolusi tinggi tersebut (Lintang et al., 2024). Berikut merupakan literatur sistem metode KCKT untuk identifikasi senyawa deksametason:

Tabel 2. 2 Sistem KCKT untuk identifikasi deksametason

Jurnal	Sistem kromatografi
Validasi metode analisis dan penetapan kadar deksametason dalam sediaan racikan secara KCKT fase terbalik (Riswanto et al., 2017)	**Fase gerak:** metanol:air (65:25) **Fase diam:** kolom C18 4,6 mm × 250 mm **Detektor:** UV 239 nm **Laju alir:** 1 mL/menit
Analisis Bahan Kimia Obat Deksametason Dalam Jamu Pegal Linu Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Budiarti dan Faza, 2018)	**Fase Gerak:** 0,1% asam ortofosfat: asetonitril (70:30) **Fase Diam:** kolom C18 4,6 mm × 100 mm (5 µm) **Detektor:** UV 254 nm **Laju alir:** 1 mL/ menit
Penetapan Kadar Deksametason dan Deksklorfeniramin Maleat Secara Simultan Pada Sediaan Sirup Menggunakan KCKT (Yulianti et al., 2017)	**Fase Gerak:** air:asetonitril (65:35) **Fase Diam:** C184 mm x 25 mm **Detektor:** UV 41 nm **Laju Alir:** 1 mL/ menit

2.5. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

2.5.1. Pengertian KCKT

KCKT merupakan metode pemisahan dengan menggunakan kecepatan dan efisiensi tinggi yang dapat mengidentifikasi serta menetapkan secara kuantitatif bahan dalam jumlah yang sangat kecil. KCKT memiliki kemajuan dalam teknologi kolom, sistem pompa tekanan tinggi, dan detektor yang sensitif. Kromatografi cair dapat menghasilkan pemisahan cepat dalam banyak hal, dengan keunggulan zat yang menguap atau tidak tahan panas dapat di kromatografi tanpa penguraian atau tanpa perlu membuat *derivate* yang dapat menguap (Depkes RI, 1995).

2.5.2. Prinsip Kerja KCKT

KCKT memiliki prinsip pemisahan berdasarkan perbedaan kekuatan interaksi antara solut terhadap fase diam. Solut yang kurang kuat interaksinya dengan fase diam akan keluar terlebih dahulu dari kolom. Sebaliknya, *solute* yang memiliki interaksi yang kuat dengan fase diam akan keluar lebih lama dari kolom. Setiap komponen campuran yang keluar dari kolom akan dideteksi oleh detektor yang kemudian direkam dalam bentuk kromatogram (Mufidah, 2012).

Sedangkan menurut Hendayana (2006), prinsip kerja KCKT adalah pemisahan komponen analit berdasarkan kepolarannya, setiap campuran yang keluar akan terdeteksi dengan detektor dan direkam dalam bentuk kromatogram. Dimana jumlah puncak menyatakan jumlah komponen, sedangkan luas puncak menyatakan konsentrasi komponen dalam campuran.

2.5.3. Komponen – Komponen KCKT

KCKT merupakan analisis yang sering digunakan dalam analisis sediaan farmasi untuk pemisahan, identifikasi dan determinasi dalam campuran yang kompleks. Komponen- komponen penting dari KCKT diantaranya:

A. Wadah Fase Gerak

Wadah fase gerak yang digunakan harus bersih dan *inert*. Wadah pelarut yang kosong ataupun labu laboratorium dapat digunakan sebagai wadah fase gerak (Gandjar dan Rohman, 2007).

B. Pompa

Pompa yang cocok digunakan untuk KCKT yaitu pompa yang *inert* terhadap fase gerak. Bahan yang umum digunakan untuk pompa adalah gelas, baja tahan karat, teflon dan batu nilam. Pompa yang digunakan dalam KCKT harus mampu memberikan tekanan sampai 5000 psi dan mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan alir 3mL/ menit (Gandjar dan Rohman, 2007).

C. Injektor

Sampel cair dan larutan disuntikan secara langsung ke dalam fase gerak yang mengalir di bawah tekanan menuji kolom menggunkan penyuntik yang terbuat dari tembaga yang tahan karat dan katup Teflon yang dilengkapi dengan keluk sampel internal atau eksternal. Pada saat penyuntikan sampel, sampel digelontor melewati keluk dan kelebihan atau sisa sampel akan dikeluarkan ke pembuang. Pada proses penyuntikan, katup diputar sehingga fase gerak mengalir melewati keluk sampel dan menggelontor sampel ke dalam kolom. Penyuntikan ini mudah digunakan untuk otomisasi dan sering digunakan untuk *autosampler* pada KCKT (Gandjar dan Rohman, 2007).

D. Kolom

Kolom merupakan bagian terpenting dalam pemisahan metode KCKT. Kolom dalam KCKT kebanyakan berisi silika yang dimodifikasi, atau polimer- polimer stiren dan divinil benzene. Permukaan silika adalah polar dan sedikit asam karena terdapat gugus silanol. Silika dapat dimodifikasi secara kimiawi dengan bantuan reagen- reagen tertentu salah satunya klorosilan. Reagen ini akan bereaksi dengan gugus silanol dan menggantinya dengan gugus fungsional yang lain. Hasil reaksi yang diperoleh disebut dengan silika fase terikat yang stabil terhadap hidrolisis karena

terbentuk ikatan siloksan. Silika yang telah dimodifikasi memiliki karakterisktik kromatografik dan selektifitas yang berbeda jika dibandingkan dengan silika yang tidak dimodifikasi (Gandjar dan Rohman, 2007).

E. Oven

Pada KCKT sistem terbalik, suhu kolom menentukan waktu retensi dan mempengaruhi selektivitas. Suhu yang digunakan dalam analisis berkisar antara 30 - 50ºC, penggunaan suhu yang lebih besar dapat mempengaruhi stabilitas analit dan masa kerja kolom (Dong dan Ahuja, 2005).

F. Detektor

Detektor pada KCKT dikelompokkan menjadi dua yaitu:

- Detektor universal yaitu detektor yang mampu mendeteksi zat secara umum, tidak bersifat spesifik, dan tidak bersifat selektif seperti detektor indeks bias dan detektor spektrofotometri massa.
- Detektor spesifik yaitu detektor yang mampu mendeteksi analit secara spesifik, dan tidak bersifat seperti detektor UV-*Visible*, detektor fluorosensi, elektrokimia.

Salah satu detector yang sering digunakan adalah detector UV - *Visible*. Detector tersebut didasarkan pada penyerapan radiasi ultraviolet (UV) dan sinar tampak (*Visible*) pada rentang panjang gelombang 190 nm - 800 nm oleh spesies *solute* yang mempunyai struktur – struktur atau gugus – gugus kromofik (Kar, 2005).

2.5.4. Fase Diam Pada KCKT

Fase diam pada metode KCKT berupa silika yang telah dimodifikasi secara kimiawi, silika yang tidak dimodifikasi atau polimer- polimer stiren dan divinil benzena. Permukaan silika bersifat polar dan sedikit asam karena adanya residu gugus siloanol (Si-OH). Silika yang dimodifikasi ini mempunyai karakteristik kromatografi dan selektivitas yang berbeda jika dibandingkan dengan silika yang tidak dimodifikasi. Oktadesil silika (C18)

merupakan fase diam yang sering digunakan karena mampu memisahkan senyawa- senyawa mulai dari kepolaran rendah, sedang, maupun tinggi (Gandjar dan Rohman, 2007).

2.5.5. Fase Gerak Pada KCKT

Fase gerak pada metode KCKT terdiri atas campuran pelarut yang dapat bercampur yang secara keseluruhan berperan dalam daya elusi dan resolusi. Daya elusi dan resolusi ini ditentukan oleh polaritas keseluruhan pelarut, polaritas fase diam, dan sifat - sifat komponen sampel (Gandjar dan Rohman, 2007).

2.5.6. Elusi Gradien dan Isokratik

Elusi dapat dilakukan dengan cara isokratik atau dengan cara gradien. Elusi isokratik yaitu elusi yang menggunakan komposisi fase gerak tetap sama selama proses analisis. Sedangkan elusi gradien adalah elusi yang menggunakan komposisi fase gerak yang berubah- ubah selama proses identifikasi (Ghanjar dan Rohman, 2007)

2.5.7. Jenis Pemisahan KCKT

Berdasarkan jenis fase gerak dan fase diamnya, pemisahan secara KCKT dibedakan menjadi dua yaitu:

A. Kromatografi Fase Normal

Pemisahan metode kromatografi menggunakan fase diam lebih polar daripada fase gerak, kemampuan elusi meningkat dengan meningkatnya polaritas pelarut (Gandjar dan Rohman, 2007).

B. Kromatografi Fase Terbalik

Pemisahan metode kromatografi menggunakan kolom fase diam lebih non polar dari pada fase gerak, kemampuan elusi menurun dengan meningkatnya polaritas pelarut (Gandjar dan Rohman, 2007).

2.6. Parameter Optimasi Fase Gerak

Parameter – parameter yang digunakan untuk optimasi fase gerak dengan metode KCKT diantarnya:

2.6.1. Waktu Retensi

Waktu Retensi (TR) merupakan waktu yang ditempuh antara proses injeksi sampel dan munculnya puncak maksimum sebagai respon dari zona sampel yang terelusi. Waktu retensi dinyatakan dalam satuan menit (Kemenkes RI, 2020).

2.6.2. Resolusi

Resolusi adalah ukuran seberapa baik pemisahan dari dua puncak. Nilai resolusi yang direkomendasikan yaitu $R_s > 1,5$ (Ghanjar dan Rohman, 2007).

2.6.3. Lempeng Teoritis (N)

Lempeng Teoritis (N) merupakan angka yang menunjukkan kinerja kolom (efisiensi kolom) untuk membentuk puncak kromatogram dalam setiap satuan unit *run-time*. Nilai lempeng teoritis yang direkomendasikan yaitu $N > 2000$ (USP, 2021).

2.6.4. *Tailing Factor* (TF)

Tailing factor adalah nilai yang menunjukkan kesimetrian kromatogram yang dihasilkan dapat mempengaruhi akurasi saat kuantifikasi. Nilai yang direkomendasikan yaitu $TF \leq 2$ (USP, 2021).

2.7. Validasi Metode Analisis

Validasi metode adalah suatu tindakan parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan dalam penggunaannya (Harmita, 2004). Suatu metode perlu dilakukan validasi ketika metode baru dikembangkan untuk mengatasi masalah analisis, penjaminan mutu, dan metode baku yang direvisi untuk menyesuaikan perkembangan atau karena munculnya suatu masalah yang membuat metode baku tersebut perlu dilakukan revisi. Menurut Farmakope Indonesia Edisi VI tahun 2020, kategori pengujian validasi terbagi menjadi beberapa kategori dan disetiap kategori diperlukan analitik yang berbeda diantaranya:

a. Kategori I, Prosedur analisis untuk penetapan kadar komponen utama dalam bahan baku obat atau bahan aktif (termasuk pengawet) dalam sediaan obat jadi.

b. Kategori II, Prosedur analisis untuk penetapan cemaran dalam bahan baku obat atau senyawa hasil degradasi dalam sediaan obat jadi. Proseur ini terdiri dari penetapan kuantitatif dan uji batas.
c. Kategori III, Prosedur analisis untuk penetapan karakteristik kinerja sediaan (misalnya disolusi, pelepasan obat).
d. Kategoi IV, Prosedur analisis untuk identifikasi.

Tabel 2. 3 Unsur Data Yang Dibutuhkan Untuk Validasi Prosedur Analisis

Karakteristik kinerja Analitik	Kategori I	Kategori II		Kategori III	Kategori IV
		Kuantitatif	Uji batas		
Akurasi	Ya	Ya	*	*	Tidak
Presisi	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak
Spesifisitas	Ya	Ya	Ya	*	Ya
Batas Deteksi	Tidak	Tidak	Ya	*	Tidak
Batas Kuantitasi	Tidak	Ya	Tidak	*	Tidak
Linieritas	Ya	Ya	Tidak	*	Tidak
Rentang	Ya	Ya	*	*	Tidak

2.8. Parameter Validasi Metode

Parameter – parameter yang digunakan untuk validasi metode KCKT diantarnya:

2.8.1. Linieritas

Linearitas adalah kemampuan suatu metode analisis untuk merespon secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematis yang baik, dan sebanding dengan konsentrasi analit dalam sampel. Sedangkan rentang adalah pernyataan batas bawah dan batas atas analit yang dinyatakan. Batas-batas ini dapat diatur dengan akurasi, presisi, dan linearitas yang dapat diterima (Harmita, 2004).

Langkah untuk menentukan nilai keduanya adalah dengan memperhatikan persamaan garis regresi berdasarkan persamaan matematis data yang diperoleh dari sampel yang berbeda konsentrasi. Bentuk persamaan mengikuti, $Y = a + bx$. Hubungan linier yang ideal dapat diperoleh jika nilai $b = 0$; dan $r = \pm 1$. Sedangkan nilai a menunjukkan sensitivitas analisis, khususnya pada instrumen yang digunakan (Berthary,

C. D, 2022). Persamaan regresi dianggap linier jika nilai r > 0,990 (AOAC, 2002).

2.8.2. Akurasi

Akurasi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit sebenarnya. Akurasi dinyatakan dengan persen perolehan kembali *(%recovery)* analit yang ditambahkan. Nilai persen perolehan kembali *(%recovery)* dapat diperoleh melalui rumus: (AOAC, 2002).

$$\%Recovery = \frac{Cf - CA}{C*A} \times 100$$

C_f = Konsentrasi *spiked* yang diperoleh dari pengukuran.

C_A = Konsentrasi sampel sebenarnya.

C^*_A = Konsentrasi analit yang ditambahkan.

Rentang kesalahan yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit pada setiap konsentrasi matriks dapat dilihat pada tabel 2.4.

Tabel 2. 4 Rentang Kesalahan Yang Diijinkan Pada Setiap Konsentrasi Analit Pada Matriks (AOAC, 2002).

Analit pada matrik sampel, %	**Rata- rata yang diperoleh, %**
100	98-101%
10	95-102%
1	92-105%
0,1	90-108%
0,01	85-110%
10 µg/g (ppm)	85-115%
1 µg/g	75-120%
10 µg/kg (ppb)	70-125%

2.8.3. Presisi

Uji presisi atau uji keseksamaan merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian anatara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata- rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Presisi atau keseksamaan dapat ditentukan melalui %RSD. Persyaratan uji presisi

yaitu ½ dan 2 kali dari nilai %RSD yang tertera dalam tabel 2.5 (AOAC, 2002).

Tabel 2. 5 Nilai *% Repeatability* Yang Diizinkan Pada Setiap Konsentrasi Analit Pada Matriks (AOAC, 2002).

Analit pada matrik sampel, %	**%RSD**
100	1%
10	1,5%
1	2%
0,1	3%
0,01	4%
10 µg/g (ppm)	6%
1 µg/g	8%
10 µg/kg (ppb)	15%

2.8.4. Spesifisitas

Spesifisitas merupakan kemampuan untuk mengukur zat tertentu saja secara cermat dan saksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel. Spesifisitas dapat dinyatakan sebagai derajat penyimpangan metode yang dilakukan terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan berupa cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya, dan dibandingkan terhadap hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan lain yang ditambahkan (AOAC, 2002).

2.8.5. *Limit of Detection* (LOD)

Batas deteksi adalah jumlah analit terkecil (minimum) yang dapat dideteksi dalam sampel dan masih menunjukkan respon yang signifikan dibandingkan dengan nilai sampel blanko. Batas ini dapat diukur secara statistik dengan regresi linier dari kurva standar dengan rumus: (AOAC, 2004)

$$\text{LOD} = \frac{3{,}3\ Sb}{b}$$

Keterangan:
Sb = Simpangan baku
b = Slope

2.8.6. *Limit of Quantification* (LOQ)

Batas kuantifikasi (kuantitatif) adalah jumlah minimum analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama. Batas ini dapat diukur secara statistik menggunakan regresi linier dari kurva standar sesuai dengan rumus: (AOAC, 2002).

$$\text{LOQ} = \frac{10\,Sb}{b}$$

Keterangan:
Sb = Simpangan baku
b = Slope