

OPTIMASI METODE EKSTRAKSI FASE PADAT UNTUK ANALISIS KUALITATIF DAN KUANTITATIF PARASETAMOL DAN DEKSAMETASON DALAM JAMU PEGAL LINU

¹Hilda Aprilia Wisnuwardhani, ²Bertha Rusdi, ³Kiki Mulkiya Yuliatwati, ⁴Dewi Sartika, ⁵Desi Lily Anggraeni

^{1,2,3,4,5}Jurusan Farmasi, Universitas Islam Bandung, Jl. Ranggagading No. 8 Bandung 40116
e-mail: ¹hilda.aprilia@gmail.com, ²bertha.rusdi@unisba.ac.id

Abstrak. Jamu merupakan obat tradisional yang biasa digunakan oleh masyarakat untuk melakukan swamedikasi atau untuk menjaga kondisi kesehatan. Kasus penambahan bahan kimia obat ke dalam jamu menjadi rapat merah yang selalu berulang terjadi setiap tahunnya. Metode analisis bahan kimia obat dalam jamu selama ini hanya berupa analisis kualitatif dengan KLT, dan hasil analisis biasanya masih terganggu dengan kehadiran matriks pengujian. Pada penelitian ini dilakukan optimasi preparasi sampel dengan menggunakan dua cartridge SPE yang berbeda. Optimasi preparasi sampel dengan metode SPE diperoleh hasil bahwa pemisahan BKO (parasetamol dan deksametason) dari matriks pengujian dicapai dengan menggunakan cartridge OASIS HLB, pelarut pengekstraksi larutan asam format 2,5% dalam air, larutan pencuci akuades dan pelarut pengelusi larutan ammonium hidroksida 2,5% dalam metanol; dengan terlebih dahulu melakukan pengkondisian dan pencucian cartridge dengan metanol.

Kata kunci: Parasetamol, deksametason, ekstraksi fase padat

1. Pendahuluan

Jamu adalah obat tradisional Indonesia yang merupakan bahan atau ramuan yang secara turun temurun berdasarkan pengalaman telah digunakan untuk pengobatan (UU No. 23 tahun 1992). Di Indonesia, persentase masyarakat yang mengonsumsi jamu cukup tinggi yaitu 59,12%. Berdasarkan data Riskesdas tahun 2013, sebanyak 30,4% rumah tangga di Indonesia memanfaatkan pelayanan kesehatan tradisional. Sebanyak 49% di antaranya berupa pelayanan kesehatan tradisional ramuan (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2013).

Banyak produsen jamu yang menambahkan bahan kimia obat (BKO) ke dalam produk jamu untuk meraih keuntungan. Tujuan penambahan BKO tersebut agar menghasilkan efek terapi lebih kuat dan segera menyembuhkan penyakit. Penambahan bahan kimia obat ke dalam obat tradisional dilarang sesuai dengan Permenkes No. 007 Tahun 2012 tentang Registrasi Obat Tradisional. Penyelidikan terus dilaksanakan untuk mengetahui penjualan jamu berbahan kimia obat. Tim Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) mengumumkan bahwa sekitar 59 jamu yang mengandung BKO yang telah dikumpulkan sampai tahun 2013. Produk jamu yang biasa ditambahkan BKO adalah jamu pelangsing, jamu pegal linu, encok, rematik, jamu peningkat stamina, jamu diabetes, dan jamu untuk sesak (asma) (BPOM, 2012). Data dari Badan POM, jamu pegal linu sering dicemari oleh BKO seperti, parasetamol, deksametason, fenilbutason, natrium diklofenak, piroksikam, antalgin, prednison, yang apabila ditambahkan pada dosis yang berlebih dapat mengakibatkan kerusakan pada organ seperti ginjal, lambung, dan reaksi alergi hebat (Direktorat Bakti Husada, 2014).

Hingga saat ini, metode analisis BKO dalam jamu yang dilakukan oleh BPOM masih menggunakan metode kromatografi lapis tipis (MA PPOM 63/OT/95) yang mendeteksi ada atau tidaknya BKO dalam suatu jamu (analisis kualitatif) (Wisnuwardhani dkk., 2013), sedangkan kenyataan bahwa kasus penambahan BKO yang selalu berulang dan masih beredarnya jamu mengandung BKO di masyarakat, membutuhkan tidak hanya metode analisis kualitatif tetapi juga analisis kuantitatif. Analisis kuantitatif ini diperlukan untuk mengetahui paparan pengguna terhadap BKO yang terdapat dalam jamu sehingga ke depannya dapat diketahui efek jangka panjang penggunaan BKO secara terus menerus. Oleh karena itu, perlu dikembangkan metode analisis kualitatif dan kuantitatif BKO dalam jamu dengan metode yang lebih sensitif dan spesifik.

2. Material dan Metode

2.1. Bahan Yang Digunakan

Baku pembanding parasetamol dan deksametason adalah baku kerja dari industri farmasi, serbuk simplisia yang digunakan untuk pembuatan sampel simulasi jamu pegal linu, yaitu *Curcuma xanthorrhizae rhizoma* (rimpang temulawak), *Curcuma domesticae rhizoma* (rimpang kunyit) dan *Zingiberis officinalis rhizoma* (rimpang jahe) yang dibeli dari toko herbal di dekat Pasar Baru Kota Bandung, metanol p.a, cartridge EFP OASIS HLB 60 mg 3 mL (Waters), cartridge Lichrolut C-18 (Merck), akuabides steril, akuades, NH₄OH, H₂SO₄, asam format, pelat KLT GF₂₅₄ (Merck), kertas saring, kertas perkamen, aluminium foil, metanol pro KCKT.

2.2. Alat Yang Digunakan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas alat-alat gelas, timbangan analitik (Radwag XA 82/220/2X), seperangkat alat KCKT (Agillent) dengan detektor UV 254 nm, kolom Zorbax ODS 4,6 mm ID x 250 mm (5 µm) dan filter membran PTFE 0,45 µm, mikroskop, kaca objek, *cover glass*, vial, mortar, penampak bercak sinar UV 254 nm, *shaker water bath* tipe SWB-22, pipet mikro eppendorf 100–1000 µL, oven, spatula, pipa kapiler.

2.3 Pembuatan Jamu Simulasi Pegal Linu

1,75 gram serbuk simplisia *Curcuma xanthorrhizae rhizoma*, 1,75 gram serbuk simplisia *Curcuma domesticae rhizoma*, 1,5 gram serbuk simplisia *Zingiberis officinalis rhizoma*, dicampur dan digerus di dalam mortar sehingga diperoleh campuran jamu simulasi dalam bentuk serbuk yang homogen.

2.4 Optimasi Pemisahan Bahan Kimia Obat Dengan Ekstraksi Fase Padat (EFP)

a. Optimasi preparasi EFP I

Sebanyak 500 mg sampel jamu simulasi yang telah ditambahkan BKO parasetamol dan deksametason ditambahkan 10 mL metanol, kemudian campuran disaring, filtratnya diambil. Sebelumnya dilakukan pengkondisian kolom EFP C-18 dan

OASIS HLB berturut-turut dengan 6 mL metanol dan 6 mL akuadestilata. Sebanyak 1 mL sampel jamu simulasi dimasukkan ke dalam kolom EFP dan dibiarkan menetes perlahan. Kemudian kolom dicuci dengan larutan pencuci metanol dan akuadest (60:40). Kemudian, analit elusi dengan metanol. Optimasi kemudian dilakukan dengan menambahkan jumlah jamu simulasi yang diretensi menjadi sebanyak 3 mL.

b. Optimasi preparasi EFP II

Sebanyak 1 gram sampel jamu simulasi yang telah ditambahkan BKO parasetamol dan deksametason ditambahkan 8 mL H₂SO₄ 2,5% dalam air, lalu dikocok menggunakan *shaker* selama 15 menit. Kemudian, campuran disaring, filtratnya diambil. Sebelumnya, dilakukan pengkondisian kolom EFP C-18 dan OASIS HLB berturut-turut dengan 1,5 mL metanol dan 1,5 mL akuadestilata. Sebanyak 800 µL sampel jamu simulasi dimasukkan ke dalam kolom EFP dan dibiarkan menetes perlahan. Kemudian kolom dicuci berturut-turut dengan 3 mL akuades. Kemudian analit elusi dengan 3 mL NH₄OH 2,5% dalam metanol. Lalu dilakukan pemantauan menggunakan KLT. Diujikan juga menggunakan pelarut asam format 2,5% dalam air dengan prosedur yang sama.

c. Optimasi preparasi EFP III

Sebanyak 1 gram sampel jamu simulasi yang telah ditambahkan BKO parasetamol dan deksametason ditambahkan 8 mL asam format 5% dalam air. Lalu dikocok menggunakan *shaker* selama 15 menit. Kemudian campuran disaring, filtratnya diambil. Sebelumnya, dilakukan pengkondisian kolom EFP C-18 dan OASIS HLB berturut-turut dengan 1,5 mL metanol dan 1,5 mL akuadestilata. Sebanyak 800 µL sampel jamu simulasi dimasukkan ke dalam kolom EFP dan dibiarkan menetes perlahan. Kemudian, kolom dicuci dengan 3 mL akuades. Kemudian, analit elusi dengan 3 mL NH₄OH 2,5% dalam metanol, lalu dilakukan pemantauan menggunakan KLT.

2.5 Analisis Kualitatif Dengan KLT

Larutan standar parasetamol, larutan standar deksametason, filtrat jamu simulasi, larutan sisa retensi, larutan hasil cucian, dan hasil elusi ditotolkan pada plat KLT GF₂₅₄ menggunakan pipa kapiler. Kemudian, plat dimasukkan ke dalam bejana yang telah dijenuhkan, lalu elusi menggunakan eluen kloroform-metanol (9:1) (v/v) hingga eluen mencapai tanda batas. Plat dikeringkan, lalu dilihat di bawah penampak bercak sinar UV 254 nm dan dibandingkan bercak ekstrak dengan standar.

2.6 Analisis Kualitatif Dengan KCKT

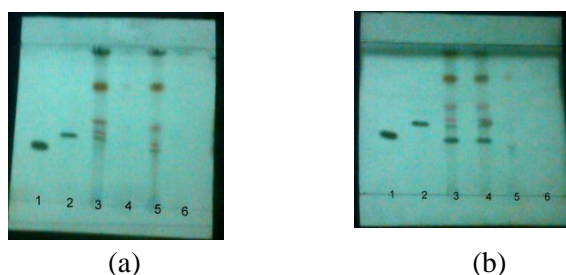
Larutan standar parasetamol, larutan standar deksametason, filtrat jamu simulasi, larutan sisa retensi, larutan hasil cucian, dan hasil elusi diinjeksikan ke dalam alat KCKT dengan menggunakan fase diam kolom C-18, fase gerak metanol : air dengan tipe elusi gradien, laju alir 1 mL/menit, detektor UV pada panjang gelombang 254 nm. Hasil kromatogram diamati puncak parasetamol, deksametason dan matriks pengujian.

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil optimasi yang diharapkan dari tahapan ini adalah diperolehnya pelarut ekstraksi sampel jamu yang sesuai yang dapat melarutkan kedua sampel BKO dalam jamu, dan diperolehnya kondisi SPE yang sesuai untuk memisahkan komponen BKO dari komponen alami yang terdapat dalam simplisia penyusun jamu pegal linu. Untuk preparasi sampel dengan SPE yang harus ditentukan adalah larutan pencuci dan eluen yang tepat.

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi BKO dari jamu pegal linu awalnya dipilih etanol, kelarutan parasetamol dan deksametason cukup baik dalam pelarut tersebut. Selanjutnya, pelarut ekstraksi diganti dengan metanol karena mempertimbangkan rencana fase gerak KLT dan KCKT yang akan digunakan yang mengandung metanol. Selain itu, dari pustaka tatacara penggunaan *cartridge* OASIS HLB dan *Lichrolut* C-18 diketahui bahwa kedua *cartridge* tersebut menggunakan pelarut metanol untuk pengkondisiannya, sehingga dinilai cocok apabila digunakan sebagai pelarut.

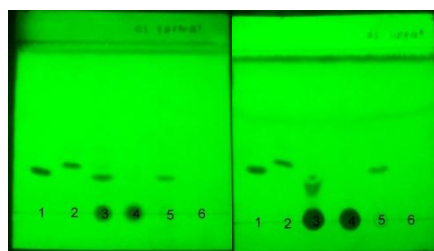
Optimasi awal preparasi sampel dengan *cartridge* SPE *Lichrolut* C-18, digunakan pelarut pengestraksi metanol, kedua BKO yang dianalisis terekstraksi dengan baik oleh metanol. Bahkan komponen lain dalam serbuk simplisia penyusun jamu yaitu curcumin ikut terekstraksi bersama dan juga tidak diretensi oleh fase diam SPE. *Curcumin* ini menjadi salah satu pengganggu analisis BKO dalam jamu karena keberadaan bercaknya yang berdekatan dengan BKO jika dianalisis dengan KLT. Hasil optimasi awal dengan pelarut pengestraksi metanol, larutan pencuci metanol-air = (4:6) dan eluen berupa metanol p.a, ternyata kedua BKO sudah dapat teretensi pada saat dimasukkan (*load*) ke dalam *cartridge*, namun tidak terensi pada saat dicuci dengan larutan pencuci metanol-air = (4 :6). Pada saat elusi sudah tidak ditemukan lagi kedua BKO dalam eluat. Pemantauan ada atau tidaknya BKO pada hasil preparasi sampel diamati dengan KLT. Kromatogram pemantauan hasil preparasi sampel dengan SPE dapat dilihat pada Gambar 1a.



Gambar 1 Kromatogram Lapis Tipis, (1) Standar Kerja Parasetamol, (2) Standar Kerja Deksametason, (3) Filtrat Jamu Simulasi, (4) Load, (5) Larutan Pencuci, (6) Hasil Elusi, Dilihat Di Bawah Sinar UV λ 254 Nm.

Apabila jumlah ekstrak yang di-*load* dinaikkan menjadi 3 mL sesuai dengan jumlah volume maksimum maka kedua BKO sama sekali tidak diretensi oleh fase diam *cartridge* sehingga untuk jumlah ekstrak yang dimasukkan ke dalam *cartridge* untuk dipisahkan, jumlah maksimum volume yang dimasukkan adalah 1 mL, jumlah optimum volume adalah 800 μ L. Kromatogram pemantauan hasil preparasi sampel SPE dengan jumlah volume maksimum 3 mL dapat dilihat pada Gambar 1b.

Dari hasil sebelumnya diketahui bahwa apabila pelarut pengestraksi jamu digunakan metanol, maka *curcumin* masih ikut terekstraksi bersama BKO. *Curcumin* memiliki kelarutan yang rendah dalam air baik dalam kondisi pH asam maupun netral (FAO, 2004). Oleh karena itu, dicoba untuk diekstraksi dengan menggunakan larutan H_2SO_4 2,5% dalam air dan larutan asam format 2,5% dalam air. Larutan pencuci adalah larutan ammonium hidroksida (ammonia) 2,5% dalam metanol. Larutan basa dipilih sebagai larutan pencuci agar kedua BKO berubah kembali menjadi bentuk *base*-nya, sedangkan eluen adalah asetonitril. Penggantian eluen dari metanol menjadi asetonitril karena asetonitril adalah pelarut yang lebih kuat dan polar dibanding dengan metanol sehingga diharapkan dapat mengelusi semua BKO yang teretensi pada fase diam. Kromatogram pemantauan hasil optimasi dengan pelarut pengestraksi larutan H_2SO_4 2,5% dalam air dan larutan asam format 2,5% dalam air dapat dilihat pada Gambar 2.



(a)

(b)

Gambar 2 Kromatogram lapis tipis, (a) diasamkan dengan asam sulfat 2,5% dalam air, (b) diasamkandengan asam format 2,5% dalam air, (1) standar kerja parasetamol (2) standar kerjadeksameton, (3) filtrat jamu simulasi, (4) load, (5) larutan pencuci, (6) hasil elusi, dilihat di bawah sinar UV λ 254 nm.

Dari gambar di atas terlihat bahwa dengan menggunakan larutan pengestraksi H_2SO_4 2,5% dalam air dan larutan asam format 2,5% dalam air, bercak yang diduga curcumin nampak berkumpul di bawah dan tidak mengganggu bercak BKO yang terekstraksi (parasetamol dan deksameton). Namun, pada gambar bercak deksameton tidak teramati dengan jelas. Permasalahannya adalah pada saat pencucian dengan ammonia 2,5% dalam metanol, BKO yang seharusnya belum terelusi malahan sudah terelusi, sedangkan pada eluat justru tidak teramati BKO. BKO diharapkan masih tetap teretensi dalam fase diam *cartridge* dan baru terelusi pada saat dielusi dengan eluen yang sesuai. Oleh karena itu, diputuskan untuk mengubah komposisi larutan pencuci menjadi akuades, sedangkan larutan eluen adalah larutan ammonia 2,5% dalam metanol, dengan tetap menggunakan larutan asam format 2,5% dalam air sebagai pelarut pengestraksi. Larutan asam sulfat 2,5% dalam air tidak dipilih karena menghasilkan bercak BKO yang kurang baik dan bercak menjadi mengekor.

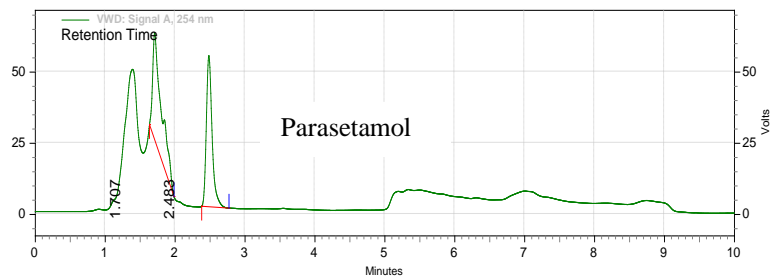
Kondisi SPE yang baru kemudian diaplikasikan juga dengan menggunakan *cartridge* SPE yang lain, yaitu OASIS HLB. *Cartridge* ini memiliki sifat fase diam yang mirip dengan *cartridge* yang sebelumnya. Fase diam OASIS HLB terdiri atas dua monomer, yaitu N-vinilpirolidon yang hidrofil dan divinilbenzen yang hidrofob. OASIS HLB mampu menjadi sorben universal untuk senyawa yang bersifat asam, netral, dan basa. OASIS HLB juga tahan dengan rentang pH dan pelarut yang luas, dibandingkan dengan fase diam *silica* yang digunakan pada *cartridge* Lichrolut C-18. Hasil pemisahan dengan menggunakan *cartridge* OASIS HLB dapat dilihat pada Gambar 3,

dengan kondisi pengujian yang sama, yaitu larutan pengekstraksi larutan asam format 2,5% dalam air, larutan pencuci akuades, dan larutan pengelusi larutan ammonia 2,5% dalam metanol.

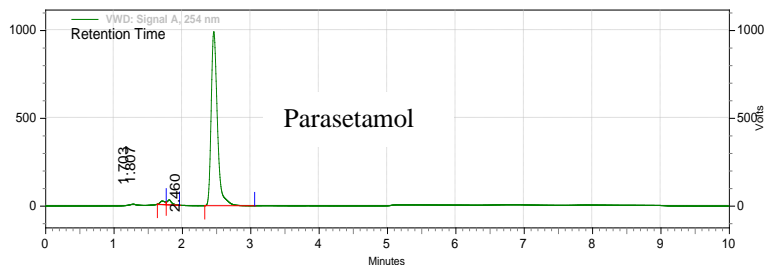


Gambar 3 Kromatogram lapis tipis hasil pemisahan dengan OASIS HLB, (1) standar kerja parasetamol (2) standar kerjadeksametason, (3) filtrat jamu simulasi, (4) load, (5) larutan pencuci, (6) hasil elusi, dilihat di bawah sinar UV λ 254 nm.

Hasil preparasi sampel SPE yang sudah dipantau dengan KLT, kemudian masing-masing hasil *load*, pencucian, dan elusi diinjeksikan ke dalam KCKT untuk mengecek apakah masih ada sisa BKO yang tersisa di dalam *cartridge* karena KCKT lebih sensitif dibanding dengan KLT. Hasil injeksi masing-masing larutan preparasi sampel dengan SPE *Lichrolut C-18* ke dalam KCKT dapat dilihat pada Gambar 4, dan 5.



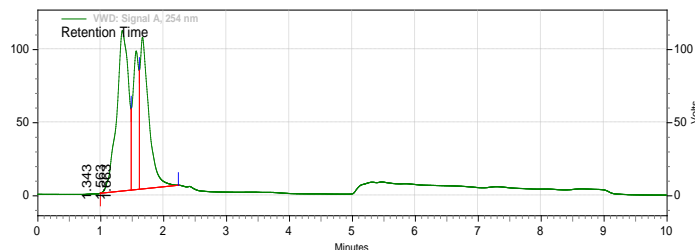
Gambar 4 Kromatogram Hasil *Load Lichrolut C-18*



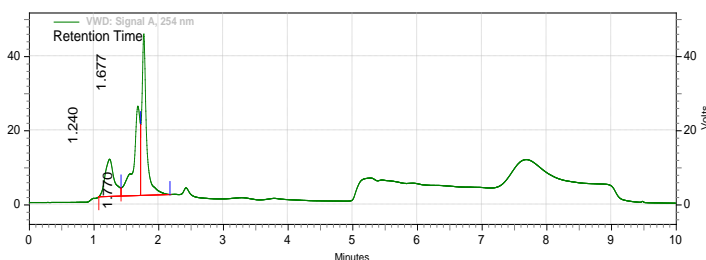
Gambar 5 Kromatogram Larutan Hasil Pencucian *Lichrolut C-18*

Ternyata dari hasil injeksi ke dalam alat KCKT diketahui bahwa masih ada sisa BKO parasetamol yang tidak teretensi pada saat proses *load* sampel dan pencucian.

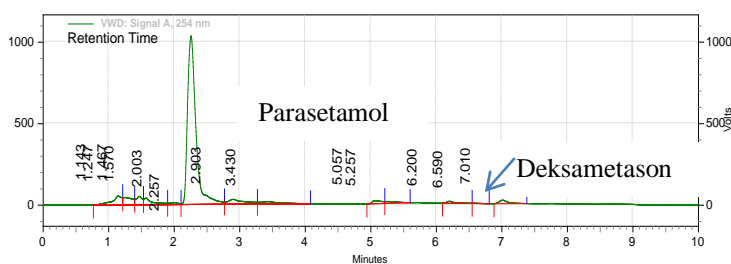
Hasil injeksi masing-masing larutan preparasi sampel dengan SPE OASIS HLB ke dalam KCKT dapat dilihat pada Gambar 6, 7, dan 8.



Gambar 6. Kromatogram Hasil Load OASIS HLB



Gambar 7. Kromatogram Larutan Hasil Pencucian OASIS HLB



Gambar 8. Kromatogram Larutan Hasil Elusi OASIS HLB

Dari hasil analisis menggunakan KCKT, dapat disimpulkan bahwa proses pemisahan dengan menggunakan *catridge* OASIS HLB menghasilkan pemisahan yang lebih baik. Pada kromatogram baik hasil *load* dan pencucian tidak diamati terdapat kedua BKO, hal ini menunjukkan bahwa kedua BKO sudah dapat diretensi dengan baik. Begitupun pada kromatogram hasil elusi terlihat puncak parasetamol dan deksametason sesuai dengan yang diharapkan.

Sifat sorben OASIS HLB yang mampu memisahkan rentang sifat senyawa yang bervariasi mulai dari asam, netral, dan basa menjadikannya lebih cocok untuk memisahkan kedua BKO dalam jamu. Sifat sorben *Lichrolut C-18* yang terbatas hanya dapat meretensi senyawa yang bersifat nonpolar tidak mampu meretensi kedua BKO pada saat *load*.

4. Simpulan dan Saran

4.1 Simpulan

Pemisahan BKO (parasetamol dan deksametason) dari matriks pengujian dicapai dengan menggunakan *cartridge* OASIS HLB, pelarut pengekstraksi larutan asam format 2,5% dalam air, larutan pencuci akuades dan pelarut pengelusi larutan ammonium hidroksida 2,5% dalam metanol dengan terlebih dahulu melakukan pengkondisian dan pencucian *cartridge* dengan metanol.

4.2 Saran

Perlu dilakukan validasi metode analisis sehingga metode bisa digunakan untuk analisis di laboratorium.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada LPPM Universitas Islam Bandung atas terlaksananya acara Seminar Nasional Penelitian dan Pengabdian 2015 ini dan kepada pihak Panitia Prosiding atas kerjasamanya untuk memuat makalah seminar terpilih.

Daftar Pustaka

- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Riset Kesehatan Dasar. Kementerian Kesehatan RI. Jakarta; 2013.
- Direktorat Bina Produksi dan Distribusi Kefarmasian Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian & Alat Kesehatan Bakti Husada. Bahaya Bahan Kimia Obat (BKO) Pada Jamu; 2014.
- Food and Agriculture Organization : Chemical and Technical Assessment, Curcumin, p.4; 2004
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 007 Tahun 2012 tentang Registrasi Obat Tradisional.
- United States Pharmacopoeia Conv. Inc. USP XXXIV, Reference Tables, Description and Solubility; 2012.
- Wisnuwardhani HA, Fidrianny I, Ibrahim S,: Methods Development For Simultaneous Analysis of Steroid and Non Steroid Antiinflammatory Substances in Jamu Pegal Linu Using TLC-Spectrophotodensitometry, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science. 2013: 5 (4); 749-53.
- www.pom.go.id, Public Warning/Peringatan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia tentang Obat Tradisional mengandung Bahan Kimia Obat, Nomor: HM.03.03.1.43.08.10.8013, tanggal 13 Agustus 2010, [diakses 10 Juni 2015] 22.15.