

Validasi Metode Identifikasi Fenilbutazon dan Deksametason dalam Jamu Pegal Linu secara Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri

Imelda Rindiantyas

Fakultas Farmasi, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

Diana

Fakultas Farmasi, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

Henry Kurnia Setiawan

Fakultas Farmasi, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

Alamat: Raya Kalisari Selatan No 1, Surabaya

Korespondensi penulis: diana_tan@ukwms.ac.id

Abstract. Traditional herbal medicine, known as 'Jamu,' is prohibited from containing pharmaceutical chemical substances (BKO) by the Indonesian Food and Drug Monitoring Agency (BPOM). In October 2022, BPOM released a public warning after discovering the presence of phenylbutazone and dexamethasone in a muscle pain relief jamu product. The purpose of this research is to establish a valid method for identifying phenylbutazone and dexamethasone in jamu pegal linu. In this study, the method was applied to 10 brands of muscle pain relief jamu samples. The samples were extracted with methanol and then spotted in a quantity of 5 μ l on a silica gel 60 F254 plate, eluted with a selected mobile phase, namely ethyl acetate: methanol: ammonia (8.5:1:0.5, v/v/v). Spots were observed with a densitometry at λ 240 nm. Phenylbutazone appeared at R_f 0.33, and dexamethasone at R_f 0.77, with a resolution value (R_s) of 5.8. The detection limits for phenylbutazone were 8,5307 μ g/ml (0,1706 mg/600 mg capsule) and for dexamethasone, 8,7611 μ g/ml (0,1752/600 mg capsule). The results revealed that two samples tested positive for both phenylbutazone and dexamethasone, while six samples tested positive for dexamethasone.

Keywords: Adulteration, Herbal Medicine, TLC

Abstrak. Jamu sebagai obat tradisional dilarang mengandung bahan kimia obat (BKO) di dalamnya oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). Pada Oktober 2022, BPOM mengeluarkan public warning yang menemukan adanya jamu pegal linu yang mengandung fenilbutazon dan deksametason. Tujuan dari penelitian ini untuk memperoleh metode yang valid untuk identifikasi fenilbutazon dan deksametason dalam jamu pegal linu. Pada penelitian ini, metode diaplikasikan pada 10 merk sampel jamu pegal linu. Sampel diekstraksi dengan metanol kemudian ditotolkan sebanyak 5 μ l pada plat silika gel 60 F254 dan dieluasi dengan fase gerak terpilih yaitu etil asetat : metanol : amonia (8,5 : 1 : 0,5, v/v/v). Noda akan diamati dengan densitometer pada λ 240 nm. Fenilbutazon muncul pada R_f 0,33 dan deksametason pada R_f 0,77 dengan nilai resolusi (R_s) 5,8. Batas deteksi dari fenilbutazon yaitu 8,5307 μ g/ml (0,1706 mg/600 mg kapsul) dan deksametason 8,7611 μ g/ml (0,1752/600 mg kapsul). Hasil yang diperoleh 2 merek positif mengandung fenilbutazon dan deksametason serta 6 sampel positif mengandung deksametason.

Kata kunci: Bahan Kimia Obat, Sediaan Herbal, TLC

LATAR BELAKANG

Salah satu warisan budaya Indonesia yang digunakan secara turun temurun adalah obat tradisional atau yang biasa disebut dengan jamu. Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar dari Badan Litbang Kesehatan pada tahun 2018 bahwa 59,12% masyarakat Indonesia masih mengkonsumsi jamu dan 95.6% diantaranya mengakui manfaat jamu dalam meningkatkan

Received: April 14, 2024; Accepted: May 14, 2024; Published: Juni 30, 2024

* Imelda Rindiantyas, diana_tan@ukwms.ac.id

kesehatan individu (KemenkesRI, 2018). Banyaknya penggunaan jamu menjadi celah bagi produsen untuk menghasilkan keuntungan yang besar dan meningkatkan nilai jual produk dengan cara menyalahgunakan produksi obat tradisional yang tidak sesuai dengan standar Cara Pembuatan Obat Tradisional yang Baik (CPOTB).

Jamu harus terbukti aman dan bermanfaat secara empirik, menggunakan bahan dan proses produksi yang memenuhi persyaratan, serta tidak mengandung bahan kimia sintetik atau hasil isolasi yang berkhasiat sebagai obat (BKO) serta tidak mengandung bahan yang tergolong obat keras atau narkotika (BPOM, 2023). Meski dengan adanya kebijakan tersebut, jamu yang mengandung BKO masih banyak ditemukan. Penambahan BKO pada jamu biasanya ditujukan untuk mempercepat efek farmakologis. Melalui *public warning* BPOM No. PW.02.04.1.4.10.22.166 pada tanggal 4 Oktober 2022, diumumkan adanya jamu pegal linu yang mengandung fenilbutazon dan deksametason di dalamnya (BPOM, 2023).

Selain pada tahun 2022, BPOM juga pernah menarik jamu pegal linu dengan kandungan yang sama pada tahun 2021, 2020, dan 2017. Sehingga berdasarkan penemuan tersebut dibutuhkan metode yang valid untuk dapat digunakan mengidentifikasi fenilbutazon dan deksametason secara bersamaan. Hal ini bertujuan agar metode tersebut dapat digunakan sebagai sarana pengawasan terutama pada jamu pegal linu yang mengandung fenilbutazon dan deksametason sehingga berguna dalam memberikan informasi pada pihak yang berwenang serta masyarakat (Xu et al., 2019).

KAJIAN TEORITIS

Validasi metode analisis bertujuan untuk memastikan prosedur analisa yang dimiliki sesuai untuk tujuan penggunaannya. Uji yang dilakukan pada validasi metode antara lain spesifisitas/selektivitas, linieritas, akurasi, presisi, uji batas deteksi atau *limit of detection* (LOD) dan uji batas kuantitas atau *limit of quantitation* (LOQ). Karena keberadaan BKO dalam sediaan jamu sama sekali tidak diperbolehkan, dalam Farmakope metode analisa ini dikategorikan sebagai uji cemaran secara kualitatif. Parameter uji yang diperlukan hanyalah Spesifisitas dan Limit deteksi (ICH, 2024; USP, 2021).

Pada penelitian sebelumnya, Furijika,dkk (2016) melakukan identifikasi pada 80 sampel jamu yang beredar di Bantul secara KLT dengan fase gerak benzena: kloroform: asam asetat (50: 40: 10) diperoleh harga Rf 0,86 (Mosy & Kuswandani, 2019). Penelitian oleh Rollando,dkk (2019) melakukan penetapan kadar fenilbutazon dan parasetamol di dalam jamu pegal linu yang beredar di kota Malang secara kromatografi lapis tipis densitometri menggunakan tiga macam fase gerak yaitu etil asetat : kloroform (2:1), metanol : etil asetat : n

– heksana (3:1:4), dan metanol : kloroform : aseton (2:1:0) diperoleh harga R_f 0,4; 0,41 dan 0,38 (Rollando et al., 2019). Desy, dkk (2021) melakukan analisa kualitatif dan kuantitatif dari deksametason dalam obat herbal pegal linu menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT)–densitometri dengan fase gerak etil asetat : toluen : metanol (45:55:1) diperoleh harga R_f 0,57 (Permatasari et al., 2021).

Pengembangan metode analisa cemaran Fenilbutazon dan Deksametason secara bersamaan dilakukan berdasarkan hasil penelitian sebelumnya dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) – Densitometri. Metode ini memungkinkan pemisahan analit dari matrix, melakukan analisa secara serentak serta menggunakan instrumentasi yang relatif sederhana dan murah (Lugimbana et al., 2006).

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan menggunakan alat dan bahan sebagai berikut: *Twin Trough Chamber* (Camag®, Swiss), silika gel 60 F254 (Merck®, German), TLC Scanner III (Camag®, Swiss), timbangan analitik (Ohaus®, USA), mikropipet (Scilogex®, USA), pipa kapiler, kertas saring, alat fotografi dan alat gelas. Pembanding Fenilbutazon dan Deksametason diperoleh dari PT. Deka Medica dan PT. Dankos Farma, Indonesia. Pelarut yang digunakan antara lain etil asetat p.a (Merck®, Germany), metanol p.a (Merck®, Germany), amonia p.a (Merck®, Germany), kloroform p.a (Merck®, Germany), dan n-heksan p.a (Merck®, Germany). Matrix jamu pegal linu dibuat dari simplisia *Curcuma domesticae* Rhizoma, *Curcuma xanthorrhiza* Rhizoma, *Zingiberis officinale* Rhizoma, *Sida rhombifolia* Folium, *Mimosa pudica* Folium, *Andrographis paniculata* Folium yang diperoleh dari UPT Materia Medika, Batu - Malang. Pemeriksaan keberadaan BKO juga dilakukan pada 10 sampel jamu pegal linu yang beredar di pasaran.

Selektifitas

Uji selektivitas dilakukan untuk menentukan fase gerak terpilih yang sesuai dalam memisahkan campuran fenilbutazon dan deksametason. Sebanyak 5 µL larutan baku fenilbutazon 400 ppm, deksametason 400 ppm, campuran keduanya, larutan matriks, serta larutan baku campuran dan matriks dalam metanol masing-masing ditotolkan pada plat KLT dan dieluasi menggunakan 3 macam fase gerak yang berbeda. Fase gerak yang tersebut adalah etil asetat:metanol:amonia (8,5:1:0,5 v/v), etil asetat:kloroform (9:1 v/v/v), dan n-heksan:kloroform:metanol (5:3:2 v/v).

Pemilihan fase gerak berdasarkan resolusi (R_s) dan faktor retardasi (R_f). Parameter R_s dikatakan selektif apabila resolusi $> 1,5$ dengan R_f berada diantara 0,2-0,8.

Penentuan Batas Deteksi (Limit of Detection/LOD)

Uji batas deteksi (LOD) dilakukan menggunakan metode kurva kalibrasi dimana dibuat larutan fenilbutazon pada rentang konsentrasi 30-70 ppm dan deksametason pada 20-60 ppm. Larutan kemudian ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler sebanyak 5 μ l kemudian dieluasi menggunakan fase gerak terpilih hingga batas eluasi. Plat kemudian dikeringkan dan diamati pada *TLC Scanner*.

Aplikasi Metode Identifikasi Pada Sampel

Sepuluh (10) sampel jamu pegal linu ditimbang masing-masing sebanyak 300 mg dan diekstraksi dengan 10 ml metanol kemudian disaring dan diambil filtratnya. Larutan ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler 5 μ l dan dieluasi dengan fase gerak terpilih hingga batas eluasi. Plat KLT yang telah dieluasi kemudian dikeringkan dan diidentifikasi keberadaan bahan kimia obat fenilbutazon dan deksametason menggunakan *TLC scanner*.

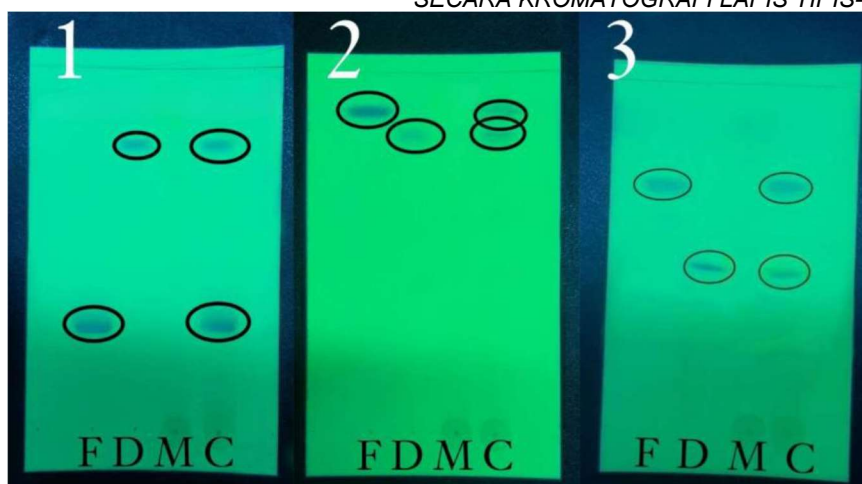
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil eluasi dengan fase gerak percobaan dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1. Fase gerak Etil Asetat:Metanol:Amonia (8,5:1:0,5) dipilih karena dapat memisahkan antara fenilbutazon dan deksametason serta tidak memberikan gangguan dari matriks jamu. Parameter uji selektivitas terpenuhi dimana pada fase gerak tersebut diperoleh R_s 5,8 dengan faktor retardasi berada diantara 0,2-0,8.

**Tabel 1. Harga faktor retardasi (R_f) dan Resolusi (R_s)
dari fenilbutazon dan deksametason**

No.	Fase Gerak	R_f			R_s	Ket.
		M	F	D		
1	Etil Asetat:Metanol:Amonia (8,5:1:0,5)	-	0,33	0,77	5,8	Terpilih
2	Etil asetat:Kloroform (9:1)	-	0,90	0,78	1,2	-
3	N-Heksan:Kloroform:Metanol (5:3:2)	-	0,69	0,45	2,4	-

Keterangan: M=Matrix, F=Fenilbutazon, D=Dexametason



Gambar 1. Hasil eluasi dengan berbagai fase gerak

Keterangan : 1 = etil asetat:metanol:amonia (8,5:1:0,5), 2 = n-heksan:kloroform:metanol (5:3:2), 3 = etil asetat:kloroform (9:1). F = Fenilbutazon, D = Deksametason, M = Matriks, C = Campuran fenilbutazon dan deksametason dalam matriks

Penentuan batas deteksi (LOD) bertujuan untuk menentukan jumlah terkecil fenilbutazon dan deksametason yang masih dapat dideteksi oleh metode analisa (AOAC, 2016). Lima larutan standar fenilbutazon dan deksametason pada rentang konsentrasi rendah dieluasi menggunakan fase gerak terpilih dan hasilnya diamati menggunakan *TLC scanner* pada panjang gelombang 240 nm. Hasil pengamatan berupa luas area diregresikan dengan konsentrasi sehingga diperoleh persamaan garis yang kemudian digunakan untuk menghitung nilai LOD yang dapat diamati pada Tabel 2 dan 3.

Metode selanjutnya diaplikasi untuk menguji keberadaan fenilbutazon dan deksametason dalam 10 sampel jamu pegal linu yang dibeli melalui *e-commerce*. Sampel merupakan jamu pegal linu dalam bentuk kapsul. Dari 10 merk yang dibeli, 3 diantaranya memiliki nomor registrasi sedangkan sisanya tidak terdaftar pada BPOM. Sampel kemudian dipreparasi dan dieluasi menggunakan metode yang telah tervalidasi. Sediaan yang memberikan noda dengan R_f serupa dengan fenilbutazon dan deksametason dikonfirmasi lebih lanjut dengan pengecekan spektra menggunakan *TLC scanner*.

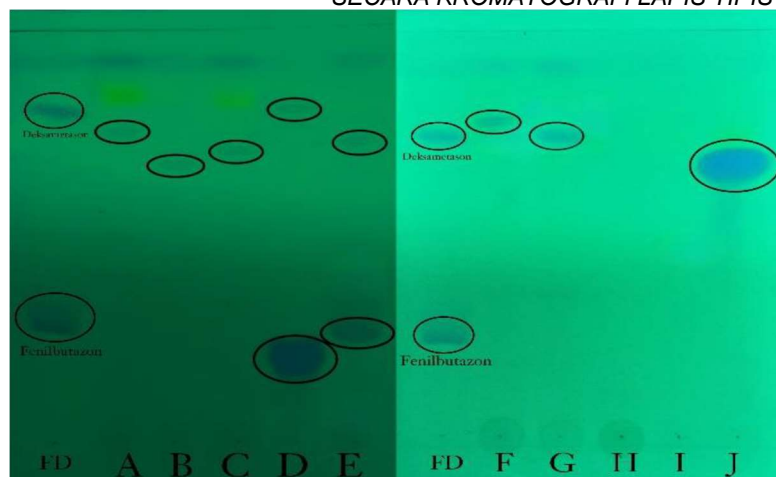
Tabel 2. Hasil Uji LOD Fenilbutason

Konsentrasi (x) (ppm)	Luas Area (y)	y_i	$(y-y_i)^2$	Keterangan
30	1068,1	1075,38	52,99	$y = 31,998x + 115,44$ (rhitung) $0,9880 > (rtabel)$ $0,8783$ $LOD = 8,5307 \text{ ppm}$ $(0,1706 \text{ mg}/600\text{mg}$ $\text{kapsul})$
40	1402,9	1395,36	56,85	
50	1782,8	1715,34	4550,85	
60	1906,9	2035,32	16491,70	
70	2416,0	2355,30	3684,49	
		$\Sigma(y-y_i)^2$	24836,89	

Tabel 3. Hasil Uji LOD Deksametason

Konsentrasi (x) (ppm)	Luas Area (y)	y_i	$(y-y_i)^2$	Keterangan
20	556,2	556,82	0,38	$y = 3,562x + 485,58$ (rhitung) $0,9874 > (rtabel)$ $0,8783$ $LOD = 8,7611 \text{ ppm}$ $(0,1752 \text{ mg}/600\text{mg}$ $\text{kapsul})$
30	583,4	592,44	81,72	
40	639,8	628,06	137,83	
50	669,8	663,68	37,45	
60	691,1	669,30	67,24	
		$\Sigma(y-y_i)^2$	324,63	

Sampel dinyatakan positif BKO jika memiliki noda dengan R_f yang relevan dan spektrum yang sama dengan cemaran yang dimaksud. Hasil pengujian menunjukkan dari 10 merk sampel jamu terdapat 2 sediaan yang mengandung fenilbutazon dan deksametason serta 6 sediaan lain positif mengandung deksametason.



Gambar 2. Hasil eluasi sampel merk A-J dengan pembanding campuran fenilbutazon dan deksametson (FD)

KESIMPULAN DAN SARAN

Obat tradisional merupakan sediaan yang dijual bebas di Indonesia. Konsumen seringkali tidak menyadari keberadaannya sehingga penggunaannya tidak terkontrol dan dapat menjadi berbahaya (Foroughi et al., 2017). Terlebih, masih dijumpai sediaan tanpa izin edar diperjual belikan di Indonesia. Hal ini menekankan pentingnya pengawasan pasca pemasaran untuk memastikan kontrol dan keamanan sediaan obat tradisional (Koh & Woo, 2000). Metode Kromatografi Lapis Tipis – Densitometri dengan fase gerak etil asetat:metanol:amonia (8,5:1:0,5 v/v) dapat digunakan untuk mengidentifikasi fenilbutazon dan deksametason dalam jamu pegal linu. Metode ini diharapkan dapat berguna dalam proses kontrol sediaan yang beredar di masyarakat. Edukasi masyarakat juga dirasa perlu mengingat hasil pengujian menunjukkan bahwa dari 10 sampel jamu yang diuji terdapat 8 sampel yang positif BKO. Kesadaran masyarakat bahwa sediaan tradisional tidak ditujukan memberikan efek secara instan dan mampu memilah antara sediaan dengan izin edar dan tidak akan sangat diperlukan.

DAFTAR REFERENSI

- Appendix F: Guideline for Standard Method Performace Requirements, in: AOAC Official Method of Analysis, (2016).
- KRITERIA DAN TATA LAKSANA REGISTRASI OBAT BAHAN ALAM, Pub. L. No. 25 Tahun 2023 (2023). <https://ditwasotsk.pom.go.id/media/9e799d71-218f-4ee0-ba97-b749a1635a12>
- BPOM. (2023). *Temuan Obat Tradisional dan Suplemen Kesehatan Mengandung BKO serta Kosmetik Mengandung Bahan Dilarang/Berbahaya Tahun 2023*. <https://www.pom.go.id/siaran-pers/temuan-obat-tradisional-dan-suplemen-kesehatan-mengandung-bko-serta-kosmetik-mengandung-bahan-dilarang-berbahaya-tahun-2023-2>
- Foroughi, M. H., Akhgari, M., Jokar, F., & Mousavi, Z. (2017). Identification of undeclared active pharmaceutical ingredients in counterfeit herbal medicines used as opioid substitution therapy. *Australian Journal of Forensic Sciences*, 49(6), 720–729. <https://doi.org/10.1080/00450618.2016.1273387>
- Harmonised Tripartite Guideline. Q2 (R2): Validation of Analytical Procedure, (2024). <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q2r2-validation-analytical-procedures-scientific-guideline>
- KemenkesRI. (2018). *Laporan Nasional Riskesdas 2018*. https://repository.badankebijakan.kemkes.go.id/id/eprint/3514/1/Laporan_Riskesdas_2018_Nasional.pdf
- Koh, H. L., & Woo, S. O. (2000). Chinese proprietary medicine in Singapore: Regulatory control of toxic heavy metals and undeclared drugs. *Drug Safety*, 23(5), 351–362. <https://doi.org/10.2165/00002018-200023050-00001/METRICS>
- Lugimbana, L., Malebo, H. M., Segeja, M. D., Akida, J. A., Malle, L. N., & Lemnge, M. M. (2006). A simple technique for the detection of anti-malarial drug formulations and their presence in human urine. *Tanzania Health Research Bulletin*, 8(3), 149–154. <https://doi.org/10.4314/THRB.V8I3.45112>
- Mosy, F. F., & Kuswandani. (2019). Identifikasi Senyawa Jamu Pegal Linu yang Beredar di Kabupaten Bantul dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Ilmu Keperawatan Dan Ilmu Kesehatan Masyarakat*, 14(1), 80–85. <https://doi.org/10.32504/sm.v14i2.129>
- Permatasari, D., Kurniasri, N., & Muladi Putra Mahardika. (2021). Qualitative and Quantitative Analysis of Dexamethasone in Rheumatic Pain Herbal Medicine Using Thin Layer Chromatography (TLC) – Densitometry. *Journal of Fundamental and Applied Pharmaceutical Science*, 2(1), 11–21. <https://doi.org/10.18196/jfaps.v2i1.12450>
- Rollando, R., Embang, E. D., & Monica, E. (2019). Penetapan Kadar Fenilbutazon dan Parasetamol Didalam Jamu Pegal Linu yang Beredar di Kota Malang Secara Kromatografi Lapis Tipis Densitometri. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 2(1), 126–138.
- USP. (2021). General Chapter: USP. Validation of Compendial Procedure <1225>. In *USP 44 - NF 39*.
- Xu, M., Huang, B., Gao, F., Zhai, C., Yang, Y., Li, L., Wang, W., & Shi, L. (2019). Assesment

VALIDASI METODE IDENTIFIKASI FENILBUTAZON DAN DEKSAMETASON DALAM JAMU PEGAL LINU
SECARA KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS-DENSITOMETRI
of adulterated traditional Chinese medicines in China: 2003-2017. *Frontiers in
Pharmacology*, 10. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2019.01446/PDF>