

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Jamu**

##### **2.1.1 Pengertian Jamu**

Jamu adalah minuman herbal tradisional dari Indonesia yang dibuat dari bahan-bahan alami, seperti bagian tumbuhan, termasuk rimpang atau akar, daun-daunan, kulit batang, dan buah (Isnawati, 2021). Bahan-bahan ini dipilih karena memiliki kandungan senyawa aktif yang berkhasiat bagi kesehatan, seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Jamu merupakan obat herbal tradisional dari Indonesia yang telah digunakan selama berabad-abad oleh masyarakat Indonesia untuk menjaga kesehatan dan mengobati berbagai penyakit (Kusumo et al., 2020). Jamu umumnya dikonsumsi dengan cara diminum (Rosadi et al., 2023). Jamu adalah salah satu warisan budaya Indonesia yang perlu terus dikembangkan, karena selain berperan sebagai obat tradisional, jamu juga memiliki potensi sebagai sumber daya nasional yang inklusif, berhubungan erat dengan aspek sosial dan ekonomi di Indonesia (Andini et al., 2023).

Berdasarkan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 25 Tahun 2023 Obat Bahan Alam di Indonesia dilarang mengandung:

- a. Dalam bentuk sediaan cairan obat dalam yang mengandung etil alkohol lebih 1% v/v, kecuali dalam bentuk sediaan tingtur dengan cara penggunaan diencerkan;
- b. Bahan kimia berkhasiat obat yang merupakan hasil isolasi atau sintetik pada Obat Bahan Alam;
- c. Narkotika atau psikotropika; dan/atau
- d. Bahan yang berdasarkan hasil pengawasan dan/atau kajian risiko BPOM tidak memenuhi standar dan/atau persyaratan keamanan, khasiat, dan mutu.

Berdasarkan Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK. 00.05.4.2411 pasal 2 menyatakan bahwa jamu harus memenuhi beberapa kriteria diantaranya adalah sebagai berikut:

- a. Memastikan keamanan sesuai dengan persyaratan yang telah ditetapkan.
- b. Khasiat yang diklaim harus didukung oleh data empiris yang valid.
- c. Mematuhi standar mutu yang berlaku.



Gambar 2.1 Logo Jamu

### 2.1.2 Jamu Pegal Linu

Jamu pegal linu merupakan salah satu jenis jamu tradisional yang diformulasikan khusus untuk meredakan nyeri otot dan sendi, yang sering disebabkan oleh kelelahan, aktivitas fisik berlebihan, atau perubahan cuaca (Putri et al., 2023). Secara teoritis, jamu ini mengandung berbagai bahan herbal dengan sifat analgesik dan anti-inflamasi. Beberapa bahan utama yang biasanya digunakan dalam jamu pegal linu meliputi jahe (*Zingiber officinale*), kunyit (*Curcuma longa*), dan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*). Jamu pegal linu adalah salah satu jenis jamu yang sering kali dicampur dengan BKO (Hasan et al., 2023).

## 2.2 Bahan Kimia Obat (BKO)

### 2.2.1 Pengertian BKO

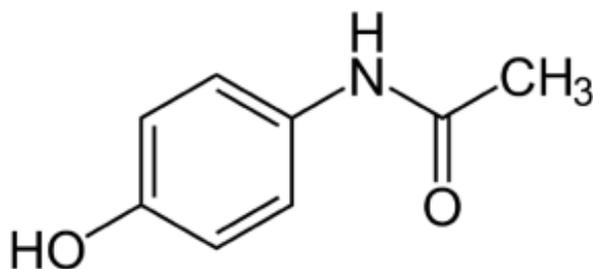
Bahan Kimia Obat (BKO) adalah senyawa kimia yang berfungsi sebagai komponen utama dalam obat-obatan kimiawi dan sering kali ditambahkan ke dalam sediaan obat tradisional atau jamu untuk meningkatkan efek terapeutiknya (BPOM, 2013). Bahan kimia obat adalah senyawa kimia, baik hasil isolasi maupun sintesis, yang memiliki efek farmakologis atau khasiat sebagai obat (Hartono, 2010).

Bahan atau zat kimia obat adalah senyawa kimia yang memiliki aktivitas farmakologis sebagai komponen aktif dalam obat. Senyawa ini

berfungsi untuk memengaruhi fungsi tubuh dengan tujuan mencegah, meringankan, atau menyembuhkan penyakit (Schunack et al., 1990).

### 2.3 Parasetamol

Parasetamol memiliki nama kimia N-(4-hidroksifenil)asetamida dengan rumus molekul  $C_8H_9NO_2$  dengan berat molekul 151,16. Senyawa ini berbentuk kristal berwarna putih, tidak berbau, dan memiliki rasa yang pahit. Parasetamol memiliki kelarutan yang baik dalam air mendidih dan larutan natrium hidroksida 1 N. Selain itu, senyawa ini juga mudah larut dalam etanol (Depkes RI, 2020).



Gambar 2.2 Struktur Kimia Parasetamol

Asetaminofen atau Parasetamol adalah senyawa dengan efek farmakologis sebagai analgesik dan antipiretik. umumnya digunakan untuk meredakan nyeri ringan hingga sedang, seperti nyeri otot sementara, nyeri pra-menstruasi, sakit kepala, serta untuk mengatasi demam (Arief, 2009). Penggunaan asetaminofen dapat dilakukan dengan atau tanpa resep dokter (Hidayati & Kustriyani, 2020). Parasetamol adalah obat bebas yang termasuk dalam golongan obat yang relatif aman untuk digunakan dalam swamedikasi (Depkes RI, 2007). Obat ini dapat dibeli tanpa resep dokter di apotek, toko terdekat, atau fasilitas pelayanan kesehatan lainnya. Parasetamol termasuk dalam golongan obat non-narkotika, dengan mekanisme kerja yang memperlambat sintesis prostaglandin, terutama di Sistem Saraf Pusat (SSP) (Nurfadhila et al., 2023). Parasetamol dapat menyebabkan nekrosis hati jika terjadi overdosis (Irawan et al., 2022).

Berdasarkan metode BPOM identifikasi BKO parasetamol menggunakan KLT dan Spektrofotodensitometri. Cara penetapan senyawa

parasetamol dengan KLT menggunakan fase diam berupa lempeng silika gel 60 F<sub>254</sub> dan fase gerak berupa etil asetat:metanol:amonia (80:10:10) atau kloroform:metanol (90:10). Sedangkan, pada spektrofotodensitometri dilakukan *scanning* terhadap lempeng KLT yang telah di eluasi dengan spesifikasi *slit dimensions* sebesar 4,00 x 0,30 mm (makro), *scanning speed* sebesar 40 mm/s, *data resolution* sebesar 100  $\mu\text{m}/\text{step}$ , menggunakan lamp D2 pada panjang gelombang 210-400 nm. Campuran senyawa dapat dipisahkan menggunakan KLT berdasarkan perbedaan sifat polaritas dan kelarutannya, kemudian dianalisis menggunakan metode Spektrofotodensitometri (BPOM, 2018).

Berdasarkan Farmakope Indonesia Edisi VI, senyawa parasetamol dapat diidentifikasi menggunakan KCKT dengan sistem fase gerak berupa gradien menggunakan campuran larutan A dengan larutan B. Pada larutan A menggunakan campuran larutan kalium fosfat monobasa anhidrat dan natrium fosfat dibasa anhidrat, dan pada larutan B berupa metanol. Kolom yang digunakan adalah kolom 4,6 mm x 10 cm berisi bahan pengisi L7 dengan ukuran partikel 3,5  $\mu\text{m}$  dan laju alir lebih kurang 1 mL/min.

## **2.4 Kromatografi**

Kromatografi adalah metode pemisahan yang bekerja berdasarkan prinsip distribusi suatu senyawa antara fase diam dan fase gerak, dengan memanfaatkan perbedaan sifat kepolaran (Darmawansyah et al., 2023). Kromatografi adalah metode pemisahan fisik untuk campuran senyawa kimia (analit) yang didasarkan pada perbedaan migrasi atau distribusi masing-masing komponen dalam campuran. Proses pemisahan terjadi pada fase diam di bawah pengaruh fase gerak, dimana fase gerak dapat berupa gas atau cairan, sementara fase diam dapat berupa cairan atau padatan (Rosyidiati & Kamelia, 2019)

## **2.5 KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi)**

### **2.5.1 Pengertian KCKT**

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan salah satu instrumen yang digunakan dalam teknik analisis untuk pemisahan,

baik secara kualitatif maupun kuantitatif, serta untuk isolasi dan pemurnian senyawa (Johnson & Stevenson, 1991)

### 2.5.2 Prinsip Kerja KCKT

Prinsip kerja KCKT adalah memisahkan komponen analit berdasarkan perbedaan kepolarannya. Setiap komponen dalam campuran yang keluar dari kolom akan terdeteksi oleh detektor dan dicatat sebagai kromatogram. Jumlah puncak (*peak*) pada kromatogram menunjukkan jumlah komponen dalam campuran, sedangkan luas puncak mencerminkan konsentrasi masing-masing komponen (Hendayana, 2006).

Keunggulan KCKT terletak pada kemampuannya memberikan pemisahan yang cepat, efisien, dan resolusi tinggi. Seiring dengan pesatnya penemuan obat baru, peningkatan kompleksitas komposisi obat (yang melibatkan lebih dari dua komponen aktif), serta pengaruh matriks pada sediaan atau sampel, diperlukan validasi metode untuk mendukung penelitian di bidang kefarmasian (Alatas et al., 2018).

KCKT menggunakan dua fase, yaitu fase gerak dan fase diam. Fase gerak berupa cairan atau pelarut yang berfungsi untuk mengalirkan komponen campuran menuju detektor, sementara fase diam merupakan fase tetap di dalam kolom yang terdiri dari partikel dengan pori kecil dan area permukaan yang luas (Angraini & Desmaniar, 2020).

### 2.5.3 Komponen - Komponen KCKT

#### a) Fase gerak

Fungsi fase gerak adalah melarutkan campuran zat, mengangkat atau mengalirkan komponen yang akan dipisahkan melalui sorben fase diam, sehingga masing-masing komponen memiliki waktu retensi dalam rentang yang diinginkan. Fase gerak juga memberikan selektivitas yang cukup untuk pemisahan campuran senyawa (Wulandari, 2011).

#### b) Pompa

Pompa berfungsi untuk mengalirkan cairan pembawa sampel (fase gerak) melalui kolom dengan laju alir yang spesifik, yang biasanya dinyatakan dalam mL/menit. Laju alir normal berkisar antara 1-2 mL/menit, dengan tekanan pompa antara 6000-9000 psi (400-600 bar). Selama

operasional, pompa dapat mengalirkan fase gerak dengan komposisi tetap (*isocratic*) atau komposisi yang berubah secara bertahap (*gradient*) (Anonim, 2024).

c) Injektor

Injektor berfungsi untuk memasukkan sampel yang akan dianalisis ke dalam sistem KCKT. Sampel umumnya disuntikkan ke dalam fase gerak cair menggunakan jarum suntik atau sistem otomatis. Injektor yang berkualitas baik harus memastikan pengenalan sampel yang akurat dan presisi, sehingga menghasilkan hasil analisis yang dapat dipercaya (Anonim, 2024).

d) Kolom

Kolom merupakan komponen utama dalam sistem KCKT yang berfungsi untuk memisahkan komponen-komponen dalam sampel berdasarkan perbedaan sifat fisikokimia mereka. Biasanya, kolom KCKT terbuat dari bahan silika atau polimer yang memiliki luas permukaan internal yang sangat besar. Ukuran dan jenis kolom dapat disesuaikan dengan aplikasi dan tujuan analisis yang dilakukan (Suprianto, 2018).

e) Detektor

Detektor dalam KCKT berfungsi untuk mendeteksi dan mengukur jumlah komponen yang keluar dari kolom pemisah. Beberapa jenis detektor yang umum digunakan meliputi detektor UV-Vis, detektor fluoresensi, detektor refraktometer, dan detektor massa. Detektor ini menghasilkan sinyal yang tercatat sebagai kromatogram, yang kemudian dapat dianalisis dan diinterpretasikan untuk memperoleh informasi mengenai komponen dalam sampel (Suprianto, 2018).

f) Sistem Pengontrol

Hasil pemisahan senyawa dalam sistem kromatografi ditampilkan sebagai kromatogram pada alat pencatat. Waktu retensi bersifat konstan selama sistem kromatografi tetap sama, sehingga dapat digunakan untuk identifikasi atau analisis kualitatif. Luas puncak kromatogram sebanding dengan jumlah sampel yang diinjeksikan, memungkinkan perhitungan konsentrasi sampel dalam analisis kuantitatif. Setiap senyawa memiliki

waktu retensi yang berbeda, yang dapat bervariasi tergantung pada karakteristik senyawa dan kondisi operasional kromatografi (Suprianto, 2018).

## 2.6 Identifikasi parasetamol dengan metode KCKT

Identifikasi parasetamol dengan metode KCKT telah dilakukan pada penelitian sebelumnya dengan beberapa perbedaan sistem kromatografi yang mengakibatkan perbedaan waktu retensi senyawa parasetamol seperti pada tabel 2.1 dibawah ini.

Tabel 2.1 Daftar Jurnal Analisis Parasetamol dengan Fase Diam C18 Tahun 2017–2019 sebagai Acuan Penelitian

No.	Nama, Tahun	Judul Penelitian	Fase Gerak	Metode KCKT	Hasil <i>Retention Time</i> (Rt)
1.	Ahmad & Khalaf, 2018	Metode HPLC untuk penentuan paracetamol dalam formulasi farmasi dan sampel air lingkungan.	Bufer amonium fosfat pH 3:asetonitril (60:40)	- Kolom C18 4,6 x 25 cm - Detektor UV 243 nm - Laju alir 1,5 ml/menit - Suhu ambient	2,2 menit
2.	Youssef et al., 2019	Metode analisis untuk penentuan parasetamol, pseudoefedrin, dan bromfeniramin dalam tablet Comtrex	<i>Acidified water</i> pH 3:asetonitril (75:25)	- Kolom C18 4,6 x 150 mm - Detektor UV 210 nm - Laju alir 0,7 ml/menit	3,4 menit
3.	Yulyarti et al., 2018	Penetapan kadar parasetamol, kafein, dan propifenazon secara simultan dalam sediaan tablet dengan metode KCKT.	<i>Acidified water</i> pH 3:metanol (50:50)	- Kolom C18 4,6 mm x 250 mm - Detektor UV 273 nm - Laju alir 0,6 ml/menit - Suhu 35 C	5,4 menit
4.	Fernandes et al., 2017	Kuantifikasi teofilin atau parasetamol dalam matriks susu dengan kromatografi cair	Bufer amonium asetat pH 6:asetonitril:metanol (90:5:5)	- Kolom C18 4 mm x 250 mm - Detektor UV 243 nm - Laju alir 1 ml/menit	8,4 menit

No.	Nama, Tahun	Judul Penelitian	Fase Gerak	Metode KCKT	Hasil <i>Retention Time</i> (Rt)
		kinerja tinggi Penetapan kadar parasetamol, kafein, dan propifenazon secara simultan dalam sediaan tablet dengan metode KCKT.		- Suhu 23 C	

Berdasarkan beberapa penelitian yang dilakukan sebelumnya terdapat beberapa perbedaan dengan penelitian yang akan dilakukan. Beberapa perbedaannya adalah pada penggunaan detektor UV yaitu pada panjang gelombang 243 nm, ukuran kolom yang digunakan yaitu 150 mm x 4,6 mm 5  $\mu$ m, laju alir yang digunakan yaitu 1 mL/min dan 1,5 mL/min serta pada suhu oven yang digunakan. Perbedaan sistem kromatografi tersebut dapat memengaruhi hasil analisis yang berbeda dengan hasil analisis pada penelitian – penelitian sebelumnya.

## 2.7 Parameter Kromatografi

Terdapat beberapa parameter kromatografi yang umum digunakan diantaranya adalah sebagai berikut:

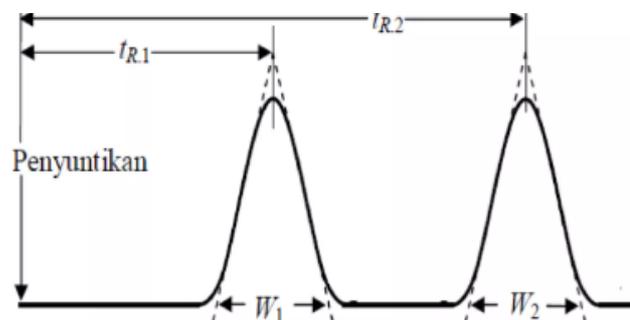
### 2.7.1 Waktu retensi

Waktu retensi mengacu pada durasi waktu yang diperlukan untuk menganalisis sampel. Pada fase terbalik, senyawa yang lebih polar akan terelusi terlebih dahulu dan memiliki waktu retensi yang lebih cepat dibandingkan dengan senyawa non-polar (Aulia et al., 2016). dapat digunakan sebagai suatu parameter untuk identifikasi. Kromatogram waktu retensi merupakan karakterisik suatu senyawa tapi tidak khas. Adanya waktu retensi suatu sampel dan baku pembanding dapat digunakan sebagai salah satu kriteria dalam pembuatan suatu profil identifikasi tapi tidak cukup untuk menentukan identitas. Waktu retensi absolut yang diberikan oleh satu senyawa dapat berbeda dari kromatogram satu dengan lainnya (Depkes RI,

2020). Pada penelitian ini, waktu retensi menjadi salah satu parameter optimasi pada identifikasi parasetamol karena sampel yang digunakan adalah jamu. Berdasarkan percobaan yang telah dilakukan, jamu memiliki banyak senyawa yang bermunculan pada waktu retensi awal sehingga perlu dilakukan optimasi metode untuk memperoleh waktu retensi yang lebih lama. Tujuannya adalah agar senyawa parasetamol dapat terpisah dengan baik terhadap senyawa lainnya yang terkandung dalam jamu.

### 2.7.2 Resolusi

Resolusi adalah kemampuan untuk memisahkan dua puncak kromatogram yang berdekatan. Nilai resolusi yang lebih dari 1,5 menunjukkan bahwa kedua puncak telah terpisah secara sempurna (Synder et al., 2010). Dalam pengembangan metode, disarankan untuk mencapai nilai resolusi  $\geq 2$ . Berdasarkan rekomendasi pada *Food and Drug Administration* (FDA) (1994) nilai resolusi yang baik adalah diatas 2.



Gambar 2.3 Resolusi Dua Senyawa

(Suprianto, 2018)

Resolusi dapat digambarkan seperti pada Gambar 2.3 dan dapat dihitung menggunakan persamaan dibawah ini.

$$R_s = 2 \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{(W_2 + W_1)}$$

Keterangan:  $R_s$  = Resolusi dua puncak

$t_{R1}$  = Waktu retensi senyawa pertama

$t_{R2}$  = Waktu retensi senyawa kedua

$W_1$  = Luas area puncak pertama

$W_2$  = Luas area puncak kedua

(Depkes RI, 2020)

### 2.7.3 Jumlah lempeng teoritis (N)

Jumlah lempeng teoritis adalah pengukuran efisiensi kolom. Jumlah lempeng teoritis (N) digunakan untuk menunjukkan efisiensi kolom dalam sistem kromatografi (Dong, 2006). Berdasarkan rekomendasi pada FDA (1994) jumlah lempeng teoritis yang baik adalah diatas 2000. Semakin tinggi nilai N, semakin besar efisiensi kolom tersebut. Jumlah lempeng teoritis dapat dihitung dengan rumus:

$$N = 16 \left( \frac{t_R}{W} \right)^2$$

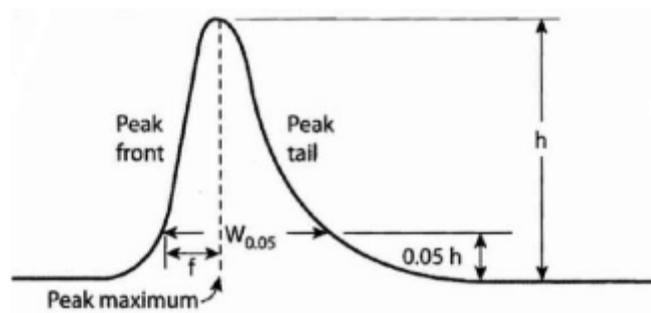
Keterangan:  $t_R$  = Waktu retensi suatu senyawa

$W$  = Lebar puncak dari dasar

(Depkes RI, 2020)

### 2.7.4 Faktor *tailing*

Faktor *tailing* atau faktor simetri merupakan nilai yang menunjukkan kesimetrisan kromatogram yang dihasilkan yang dapat mempengaruhi akurasi saat kuantifikasi (Simamora et al., 2020). Berdasarkan rekomendasi pada FDA (1994) faktor *tailing* yang baik adalah kurang dari 2.



Gambar 2.4 Puncak Kromatografi Faktor *Tailing*

Faktor *tailing* dapat digambarkan seperti pada Gambar 2.4 dan dapat dihitung menggunakan persamaan dibawah ini.

$$faktor\ tailing = \frac{W_{0,05}}{2f}$$

Keterangan:  $W$  = Lebar puncak pada 5% tinggi

$f$  = Jarak dari puncak maksimum terhadap tepi puncak, jarak diukur dari titik 5% tinggi puncak dari garis dasar

(Depkes RI, 2020)

## 2.8 Parameter Validasi

Validasi suatu prosedur analisis adalah proses yang ditetapkan melalui kajian laboratorium bahwa karakteristik kinerja prosedur tersebut telah memenuhi persyaratan sesuai dengan tujuan penggunaannya (Depkes RI, 2020). Validasi metode dilakukan dengan melakukan penetapan parameter – parameter validasi. Parameter – parameter tersebut adalah sebagai berikut:

### 2.8.1 Akurasi

Pengujian akurasi dilakukan untuk memastikan bahwa metode analisis yang digunakan dapat menghasilkan nilai perolehan kembali (*recovery*) yang memadai (Ramadhan & Musfiroh, n.d.). Akurasi dihitung sebagai persentase perolehan kembali dari penetapan sejumlah analit yang ditambahkan dan diketahui jumlahnya kedalam sampel, atau sebagai selisih antara hasil rata-rata dengan hasil benar yang diterima bersama dengan batas kepercayaannya.

Menurut dokumen *International Conference on Harmonization* (ICH) (2005), uji presisi *repeatability* harus dilakukan dengan minimal 9 penetapan, yang terdiri dari 3 konsentrasi dengan masing-masing 3 replikasi, atau dapat dilakukan dengan minimal 6 penetapan pada konsentrasi uji sebesar 100%.

### **2.8.2 Presisi**

Presisi dalam suatu metode analisis menggambarkan sejauh mana hasil dari serangkaian pengukuran yang dilakukan secara berulang pada kondisi tertentu saling mendekati. Presisi diukur menggunakan nilai simpangan baku relatif (SBR). Pengujian presisi pada metode analisis terbagi menjadi tiga kategori, yaitu keterulangan (*repeatability*), ketertiruan (*reproducibility*), dan presisi antara (*intermediate precision*) (ICH, 2005).

### **2.8.3 Linieritas**

Linieritas adalah kemampuannya untuk menunjukkan hasil uji yang secara langsung atau dengan melalui transformasi matematik yang tepat proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel dalam rentang yang diberikan. Dalam kaitan ini linieritas mengacu pada hubungan linier antara konsentrasi dan hasil pengukuran pengujian. Dalam beberapa kasus, untuk mencapai linieritas, konsentrasi atau hasil pengukuran dapat ditransformasi dalam bentuk logaritma, akar kuadrat, resiprokal, atau bentuk transformasi lainnya. Jika linearitas tidak dicapai, maka hubungan non-linear dapat digunakan (Depkes RI, 2020).

### **2.8.4 Spesifisitas**

Dokumen ICH (2005) mendefinisikan spesifisitas sebagai kemampuan menguji secara tepat suatu analit dengan adanya komponen lain dan diperkirakan ada sebagai cecaran, hasil degradasi, dan matriks sampel. Ketiadaan spesifisitas dari prosedur analisis dapat diatasi dengan penggunaan prosedur analitik pendukung.

Dokumen ICH (2005) menyatakan jika digunakan prosedur kromatografi, maka kromatogram harus disertakan untuk menunjukkan derajat selektivitasnya, dan puncak harus diberi tanda.

### **2.8.5 Batas Deteksi**

Batas deteksi adalah karakteristik uji batas. Ini merupakan konsentrasi terendah analit dalam sampel yang dapat dideteksi, tetapi tidak perlu kuantitatif dalam kondisi percobaan yang ditentukan. Uji batas semata-mata menunjang bahwa konsentrasi analit di bawah atau di atas aras

tertentu. Batas deteksi umumnya dinyatakan sebagai konsentrasi analit (misalnya persen, bpj, bpm) dalam sampel (Depkes RI, 2020).

#### **2.8.6 Batas Kuantifikasi**

Batas Kuantifikasi adalah karakteristik penetapan kuantitatif pada aras rendah dari senyawa dalam matriks sampel, seperti cemaran dalam senyawa obat ruahan dan hasil degradasi dalam sediaan farmasi akhir. Batas kuantifikasi adalah konsentrasi terendah dari analit dalam sampel yang ditetapkan dengan akurasi dan presisi yang dapat diterima dalam kondisi percobaan yang telah ditetapkan. Batas kuantifikasi dinyatakan sebagai konsentrasi analit (misalnya persen, bpj, bpm) dalam sampel (Depkes RI, 2020).