

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia nomor 007 tahun 2012 menyatakan bahwa obat tradisional tidak boleh mengandung bahan kimia obat atau hasil isolasi yang berkhasiat sebagai obat. Namun seringkali bahan kimia obat ditambahkan secara ilegal pada obat tradisional, berdasarkan hasil pengawasan Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM), pada tahun 2013 sampai dengan tahun 2016 terdapat 203 produk bahan kimia obat yang dicampur dalam obat tradisional. Bahan kimia obat yang dicampur dalam obat tradisional didominasi oleh penghilang rasa sakit dan obat rematik (BPOM, 2013).

Salah satu bahan kimia obat yang sering ditambahkan dalam obat tradisional adalah fenilbutazon, penggunaan fenilbutazon yang dicampurkan dalam obat tradisional dapat membahayakan kesehatan serta dapat mengakibatkan efek samping diantaranya diare, vertigo, gangguan penglihatan, hepatitis, reaksi hipersensifitas dan anemia aplastik, sehingga perlu dilakukan analisis penetapan kadar bahan kimia obat dalam obat tradisional menggunakan metode yang akurat, tepat dan sensitif. Menurut Farmakope Indonesia Edisi V (2014), identifikasi fenilbutazon dapat ditetapkan kadarnya secara KCKT menggunakan fase gerak campuran dapar asetat pH 4,1 dan asetonitril dengan laju alir 2,4 mL/menit menggunakan kolom (25 cm x 4,6 mm) berisi bahan pengisi L7 dan dideteksi

pada panjang gelombang 264 nm. Jedziniak dkk., (2005) telah melakukan penentuan fenilbutazon dan oxyphenbutazon di plasma menggunakan KCKT dan di deteksi dengan UV, Penelitian memenuhi parameter validasi.

Phillip dkk., (2004) melakukan pengembangan dan validasi penentuan fenilbutazon di kuda dan jaringan otot menggunakan HPLC dan di deteksi dengan UV. Fase diam berupa C_{18} serta fase gerak menggunakan metilen klorid : methanol : asam asetat (94 : 4 : 2 v/ v/ v) dengan laju alir 1,2 mL/menit dengan panjang gelombang 270 nm, memenuhi parameter validasi.

Penelitian Cahyani (2017) tentang identifikasi fenilbutazon pada jamu pegal linu yang beredar di wilayah semarang utara menggunakan KLT menyimpulkan bahwa 6 dari 10 (60%) sampel jamu pegal linu positif mengandung bahan kimia obat fenilbutazon.

Sejauh ini penelitian mengenai validasi metode penetapan kadar fenilbutazon menggunakan metode KCKT masih jarang ditemukan. Berdasarkan latar belakang tersebut, perlu dilakukan validasi metode penetapan kadar fenilbutazon menggunakan KCKT dan aplikasinya pada obat tradisional pegal linu. Validasi metode meliputi parameter ketelitian, ketepatan, selektivitas (spesifisitas), linieritas dan sensitivitas (LOD/LOQ). Fase diam yang digunakan adalah C_{18} dan fase gerak berupa campuran dapar asetat pH 4,1 dan asetonitril.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah validasi metode penetapan kadar fenilbutazon menggunakan KCKT dengan fase diam C_{18} dan fase gerak berupa campuran asetonitril dan dapar asetat pH 4,1 dapat dilakukan ?
2. Apakah uji validasi pada metode penetapan kadar fenilbutazon menggunakan KCKT memenuhi syarat presisi, akurasi, selektivitas, linieritas dan sensitivitas ?
3. Apakah metode yang telah divalidasi dapat diaplikasikan dalam sediaan obat tradisional pegal linu yang ditambah fenilbutazon?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Melakukan validasi metode penetapan kadar fenilbutazon menggunakan KCKT dengan fase diam C_{18} dan fase gerak berupa campuran asetonitril dan dapar asetat pH 4,1.
2. Melakukan validasi metode penetapan kadar fenilbutazon menggunakan KCKT memenuhi syarat presisi, akurasi, selektivitas, linieritas dan sensitivitas.
3. Mengaplikasikan metode yang telah divalidasi pada sediaan obat tradisional pegal linu.

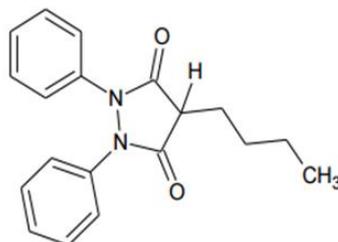
D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan menghasilkan metode penetapan kadar fenilbutazon menggunakan KCKT yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya fenilbutazon yang ditambahkan pada sediaan obat tradisional pegal linu.

E. Tinjauan Pustaka

1. Fenilbutazon

Fenilbutazon mempunyai rumus molekul $C_{19}H_{20}N_2O_2$ dengan berat molekul 308,37. Nama lain atau nama kimia dari fenilbutazon adalah 4-Butil-1,2-difenil-3,5-pirazolidinadion. Pemerian fenilbutazon berupa serbuk hablur putih sampai hampir putih dan tidak berbau. Fenilbutazon sangat sukar larut dalam air, mudah larut dalam aseton, eter dan etanol. Struktur kimia fenilbutazon dapat dilihat pada gambar I (Depkes RI., 2014).



Gambar 1. Struktur Kimia Fenilbutazon (Depkes RI, 2014)

Fenilbutazon merupakan golongan obat *non steroidal antiinflammatory drug* (NSAID) yang sering dipakai untuk mengobati artritis rematoid dan gout akut, khasiat antiradanganya lebih kuat dari pada daya kerja analgetiknya. Fenilbutazon hanya boleh dipakai untuk mengobati artritis tertentu (Tjay dan Raharja, 2007).

2. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) atau biasa disebut dengan HPLC (*High performance liquid chromatography*) merupakan teknik pemisahan komponen zat pada sampel dengan pemisahan menggunakan kecepatan dan efisiensi yang tinggi sehingga mampu menganalisis berbagai cuplikan secara kualitatif dan kuantitatif baik komponen tunggal maupun campuran (Rubianto, 2016).

Instrumen KCKT pada dasarnya terdiri dari beberapa bagian yaitu : (Harmita, 2004).

a. wadah fase gerak

Berfungsi sebagai tempat atau persediaan fase gerak.

b. Pompa

Merupakan suatu alat yang berfungsi untuk menjamin proses penghantaran fase gerak berlangsung secara tepat, reproduibel, konstan, dan bebas dari gangguan.

c. Injektor

Injektor berfungsi untuk memasukkan sampel ke dalam kolom pada saat pengisian sampel. Sampel-sampel cair dan larutan disuntikkan secara langsung ke dalam fase gerak yang mengalir di bawah tekanan menuju kolom dan kelebihan akan masuk ke pembuangan.

d. Kolom

Kolom berfungsi untuk memisahkan masing-masing komponen. Terdapat dua jenis kolom dalam kromatografi cair kinerja tinggi yaitu kolom konvensional dan kolom mikrobar.

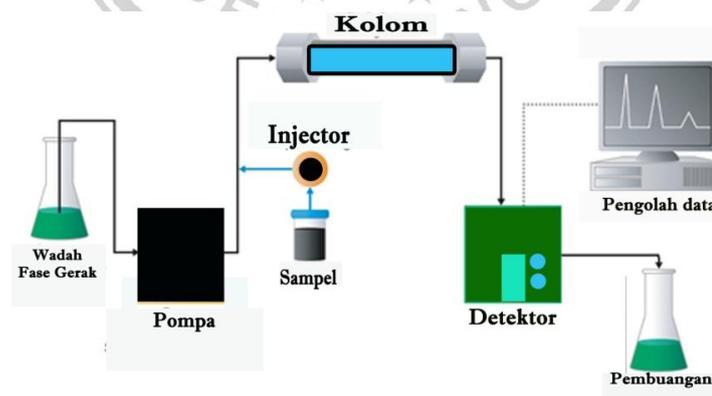
e. Detektor

Detektor berfungsi untuk mendeteksi solute yang terdapat pada analit. Detektor yang sering digunakan dalam analisis farmasi adalah detektor UV.

f. Komputer atau integrator

Komputer atau integrator berfungsi untuk mengumpulkan data yang dihubungkan dengan detektor. Alat ini akan mengukur sinyal elektronik yang dihasilkan oleh detektor lalu memplotkan sebagai suatu kromatogram.

Skema komponen KCKT dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 2. Skema Komponen KCKT

Identifikasi fenilbutazon dapat ditetapkan kadarnya secara KCKT menggunakan fase gerak campuran dapar asetat pH 4,1 dan asetonitril dengan laju alir 2,4 mL/menit menggunakan kolom (25 cm x 4,6 mm) berisi bahan pengisi L7 dan dideteksi pada panjang gelombang 264 nm. (Depkes RI, 2014).

3. Validasi

Validasi merupakan suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu terhadap percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Berikut beberapa parameter analisis dalam validasi metode analisis (Gandjar dan Rohman, 2007):

a. Presisi

Presisi merupakan tingkat kecocokan diantara masing-masing hasil pengujian. Hasil ini ditentukan berdasarkan perbedaan masing-masing hasil pengujian dari rata-rata dan biasanya ditunjukkan sebagai standar deviasi atau sebagai koefisien variasi (standar deviasi relatif), yang diperoleh dari beberapa pengukuran pada sampel homogen yang sama (Syahputri, 2006)

Uji presisi bisa dilakukan dengan menentukan parameter RSD (*Relative Standard Deviasi*) adapun rumus sebagaimana berikut (Gandjar dan Rohman, 2007) :

$$\text{RSD} = \frac{\text{SD}}{\bar{x}} \times 100\%$$

Keterangan :

RSD : Relatif Standar Deviasi

SD : Standar Deviasi

\bar{x} : Kadar rata-rata sampel

b. Akurasi

Akurasi yaitu kedekatan antara nilai terukur (nilai rata-rata hasil analisis) dengan nilai yang diterima sebagai nilai sebenarnya. Metode yang sering digunakan untuk menentukan akurasi adalah dengan melakukan prosedur analisis terhadap senyawa obat tersebut dan menganalisisnya secara kuantitatif kemudian membandingkan hasilnya dengan senyawa standar rujukan dengan kemurnian yang sudah diketahui. Akurasi perolehan kembali yang umum untuk senyawa obat dalam suatu campuran adalah kurang lebih 98-102%, apabila nilai perolehan kembali diluar standar tersebut, maka prosedur analisis harus dikaji ulang (Rohman, 2009).

c. Selektivitas

Selektivitas Selektivitas merupakan suatu ukuran kemampuan metode untuk mengukur suatu analit tanpa dipengaruhi oleh komponen lain didalam sampel yang diperiksa (Syahputri, 2006). Dalam teknik pemisahan, daya pisah (resolusi) antara analit yang dituju dengan pengganggu lainnya harus $>1,5$. Penentuan selektivitas metode dapat diperoleh dengan dua jalan yaitu cara pertama melakukan optimasi

sehingga diperoleh senyawa yang dituju terpisah secara sempurna dari senyawa-senyawa lain (resolusi senyawa yang dituju ≥ 2). Cara kedua yaitu dengan menggunakan detektor selektif, terutama untuk senyawa-senyawa yang terelusi secara bersama-sama. Penggunaan detektor UV pada panjang gelombang yang spesifik juga merupakan cara yang efektif untuk melakukan pengukuran selektivitas (Rohman, 2009).

d. Linieritas

Linearitas Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memberikan hasil uji yang secara langsung dengan konsentrasi analit dalam sampel (Syahputri, 2006). Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x). Linearitas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil untuk selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (*slope*), intersep dan koefisien korelasinya yaitu $Y = bX + a$ (Gandjar dan Rohman, 2012).

e. Sensitivitas (kepekaan)

Batas deteksi (LOD) merupakan konsentrasi paling rendah dalam sampel yang masih terdeteksi, tetapi tidak selalu bisa dikuantifikasi. LOD merupakan batas uji yang secara spesifik menyatakan apakah analit berada diatas atau dibawah nilai tertentu. Batas kuantitasi (LOQ) yaitu konsentrasi analit paling rendah pada

sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang bisa diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan. LOD dan LOQ diekspresikan sebagai konsentrasi (Gandjar dan Rohman, 2007). LOD dan LOQ bisa dihitung secara statistik dengan garis regresi linier dan kurva kalibrasi (Harmita, 2004).

4. Obat Tradisional

Obat tradisional adalah obat yang didapat dari bahan alam (mineral, tumbuhan, atau hewan) yang diolah secara sederhana berdasarkan pengalaman digunakan secara turun menurun untuk pengobatan (Syamsuni, 2006). Obat herbal Indonesia pada dasarnya dapat dikelompokkan dalam tiga kategori yaitu jamu, obat herbal terstandar dan fitofarmaka. Jamu sebagai warisan bangsa perlu terus dikembangkan dan dilestarikan dengan memperhatikan aspek mutu dan keamanannya (*safety*), khasiat jamu sebagai obat herbal selama ini didasarkan atas pengalaman empirik yang telah berlangsung dalam kurun waktu yang sangat lama (Kemendag, 2014).

Salah satu produk obat tradisional yang banyak diminati oleh masyarakat adalah Jamu pegal linu. Jamu pegal linu digunakan untuk menghilangkan pegal linu, nyeri otot dan tulang, memperlancar peredaran darah, memperkuat daya tahan tubuh dan menghilangkan sakit seluruh badan (Wahyuni dan Tanti 2004). Minat masyarakat yang besar terhadap produk jamu pegal linu sering kali disalah gunakan produsen jamu yang nakal untuk menambahkan bahan kimia obat. Pemakaian bahan kimia obat dalam jangka panjang menyebabkan kerusakan fungsi organ tubuh. Oleh karena itu

dibutuhkan pengawasan oleh BPOM supaya tidak beredar bahan kimia obat yang ditambahkan dalam jamu pegal linu (BPOM RI 2009). Badan POM RI (2009) telah memberikan peringatan keras kepada produsen jamu dan memerintahkan untuk menarik produk serta memusnahkannya, membatalkan nomor pendaftaran produk bahkan mengajukannya ke Pengadilan. Namun demikian berdasarkan pemantauan Badan POM RI, diantara produk produk jamu yang mengandung BKO masih ditemukan di toko jamu.

Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia nomor 007 tahun 2012 tentang registrasi obat tradisional menjelaskan bahwa obat tradisional dilarang mengandung:

- a. Etil alkohol lebih dari 1 %, kecuali dalam bentuk sediaan tingtur yang pemakaiannya dengan pengenceran.
- b. Bahan kimia obat yang merupakan hasil isolasi atau sintetik.
- c. Narkotika atau psikotropika.
- d. Bahan lain yang berdasarkan pertimbangan kesehatan dan atau berdasarkan penelitian membahayakan kesehatan.

F. Landasan Teori

Fenilbutazon dapat ditetapkan kadarnya dengan menggunakan KCKT karena mengandung unsur elektronegatif yang menjadikan polar sehingga dapat dipisahkan dengan KCKT dan juga memiliki gugus kromofor sehingga dapat dianalisis dengan detektor UV(Depkes RI., 2014).

Phillip dkk., (2004) melakukan pengembangan dan validasi penentuan fenilbutazon di kuda dan jaringan otot menggunakan HPLC dan di deteksi dengan UV. Fase diam berupa C_{18} serta fase gerak menggunakan metilen klorid : methanol : asam asetat (94 : 4 : 2 v/ v/ v) dengan laju alir 1,2 mL/menit dengan panjang gelombang 270 nm memenuhi parameter validasi.

Jedziniak dkk., (2005) telah melakukan penentuan fenilbutazon dan oxyphenbutazon di plasma menggunakan KCKT dan di deteksi dengan UV. Fase diam berupa C_{18} serta fase gerak menggunakan campuran asetonitril dan asam asetat dengan laju alir 1,2 mL/menit dengan panjang gelombang 240 nm. Penelitian memenuhi parameter validasi.

Penelitian yang dilakukan Latif (2013) tentang analisis bahan kimia obat dalam jamu pegal linu yang dijual di Surakarta menggunakan metode spektrofotometri UV menyatakan bahwa 2 dari 10 (20%) sampel jamu pegal linu positif mengandung bahan kimia obat fenilbutazon. Kadar pada jamu B 129,79 mg/tab dan jamu C sebesar 34,35 mg/tab dan presisi metode spektrofotometri UV untuk identifikasi fenilbutazon memenuhi syarat yaitu RSD 1,34 % dan 1,86 %, dengan panjang gelombang 264 nm.

Berdasarkan Farmakope Indonesia Edisi V (2014), identifikasi fenilbutazon dapat ditetapkan kadarnya secara KCKT menggunakan fase gerak campuran dapar asetat pH 4,1 dan asetonitril dengan laju alir 2,4 mL/menit menggunakan kolom (25 cm x 4,6 mm) berisi bahan pengisi L7 dan dideteksi pada panjang gelombang 264 nm.

G. Hipotesis

Berdasarkan tinjauan pustaka dan landasan teori, maka dapat disusun hipotesis sebagai berikut :

1. Validasi metode penetapan kadar fenilbutazon menggunakan KCKT dengan fase diam C_{18} serta fase gerak asetonitril dan dapar asetat pH 4,1 dapat dilakukan.
2. Validasi pada metode penetapan kadar fenilbutazon menggunakan KCKT memenuhi syarat presisi, akurasi, selektifitas, linieritas dan sensitivitas.
3. Metode yang sudah divalidasi dapat diaplikasikan untuk penetapan kadar fenilbutazon pada obat tradisional pegal linu yang ditambah fenilbutazon.

