
ANALISIS BAHAN KIMIA OBAT DEKSAMETASON DALAM JAMU PEGAL LINU MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI

Aqnes Budiarti^{1*}, Muhamad Barik Ulfa Faza¹

¹ Jurusan S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim
Jl. Menoreh Tengah X/22, Sampangan, Semarang 50236.

*Email : aqnesbudiarti@unwahas.ac.id

Abstrak

*Deksametason merupakan bahan kimia obat yang seringkali ditambahkan secara ilegal pada obat tradisional pegal linu sehingga dapat membahayakan kesehatan. Dengan demikian perlu dilakukan analisis penetapan kadar bahan kimia obat dalam obat tradisional menggunakan metode yang akurat, tepat dan sensitif untuk memastikan keamanan obat tradisional. Tujuan penelitian ini adalah melakukan validasi metode penetapan kadar deksametason menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dan mengaplikasikannya pada obat tradisional pegal linu yang ditambahkan deksametason. Penetapan kadar deksametason menggunakan seperangkat alat KCKT (Jazco) yang dilengkapi dengan detektor UV-Vis. Fase diam yang digunakan yaitu C₁₈ serta fase gerak berupa campuran 0,1% asam ortofosfat dan asetonitril dengan laju alir 1 mL/menit. Uji validasi yang dilakukan meliputi uji presisi, akurasi, selektivitas (spesifitas), linieritas dan sensitivitas (LOD dan LOQ). Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode penetapan kadar deksametason dapat divalidasi. Uji presisi menghasilkan ketelitian (%RSD) = 0,32%, uji akurasi memberikan nilai perolehan kembali sebesar 100,19%- 100,80%, selektivitas baik, linieritas dengan nilai korelasinya (*r*)= 0,999. LOD sebesar 0,93 μ g/mL dan LOQ sebesar 3,09 μ g/mL. Kadar rata-rata deksametason dalam obat tradisional pegal linu adalah 100,18%.*

Kata kunci : deksametason, jamu pegal linu, KCKT

PENDAHULUAN

Permenkes RI No. 007 Tahun 2012 mensyaratkan 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, hal ini dapat membahayakan kesehatan konsumen (BPOM RI, 2015).

Deksametason merupakan bahan kimia obat yang sering ditambahkan pada obat tradisional (BPOM RI, 2005). Dengan demikian, perlu dilakukan analisis penetapan kadar deksametason dalam obat tradisional menggunakan metode yang akurat, tepat dan sensitif. Menurut Farmakope Indonesia Edisi IV, identifikasi deksametason dapat dilakukan menggunakan spektrofotometri ultraviolet, kromatografi lapis tipis, KCKT dengan menggunakan baku pembanding deksametason BPFI.

Sairam dkk.,(2015) telah melakukan pengembangan metode RP-HPLC penentuan kuantitatif deksametason pada formulasi herbal. Fase diam berupa C₁₈ serta fase gerak menggunakan campuran 0,1% asam ortofosfat dan asetonitril (80:20, v/v) dengan laju alir 1,2 mL/menit dan panjang gelombang 242 nm. Penelitian memenuhi parameter validasi. Heda dkk., (2011) melakukan pengembangan dan validasi metode penetapan kadar deksametason dengan fase gerak asetonitril dan penyanga fosfat pH 3,0 (25:75, v/v) laju alir 2 ml/menit serta panjang gelombang 242 nm dan hasilnya memenuhi parameter validasi.

METODE PENELITIAN

Bahan

Sampel obat tradisional pegal linu, baku pembanding deksametason (PT. Phapros), Asam Ortofosfat pro HPLC, asetonitril, metanol pro HPLC (J.T. Baker), aquabidestilata.

Alat

Seperangkat KCKT (Jazco) terdiri dari pompa (PU 2080 plus), injektor manual, kolom C₁₈ Lichrosper 100, Rp -18 (100 mm x 4,6 mm ID, 5 μ m), detektor UV (2070 plus) dan pengolah data pada komputer (ezchrom elite), spektrofotometer UV-Vis (1800 Shimadzu), syringe (Hamilton),

pH meter (Handylab), timbangan analitik (Ohaus), penyaring eluen (Whatman), membran penyaring *nylon* 0,2 μm (GVS), Digital Ultrasonic Cleaner (Jeken), mikropipet (Socorex).

Prosedur Penelitian

Pembuatan Larutan Stok Deksametason

- a. Baku pembanding deksametason ditimbang seksama sejumlah 100 mg.
- b. Deksametason dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL.
- c. Deksametason dilarutkan dengan fase gerak sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$.
- d. Larutan disonifikasi selama 5 menit, dan disaring dengan membran penyaring *nylon* 0,45 μm (Sairam dkk., 2013).

Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Optimasi panjang gelombang menggunakan spektrofotometer UV. Larutan standar deksametason konsentrasi 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dalam fase gerak campuran 0,1% asam ortofosfat dan asetonitril (80:20, v/v) *discanning* pada panjang gelombang 200-400 nm.

Optimasi Komposisi Fase Gerak

Optimasi komposisi fase gerak terdiri dari campuran 0,1% asam ortofosfat dan asetonitril dengan perbandingan (70:30; 80:20; 90:10, v/v). Selanjutnya dipilih fase gerak yang memberikan data yang optimal. Laju alir yang digunakan adalah 1,0 mL/menit (Sairam dkk., 2015).

Pembuatan Kurva Baku

- a. Larutan stok baku deksametason 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dipipet 100, 200, 300, 400, dan 500 μL , masing-masing dimasukkan dalam labu takar 5 mL.
- b. Masing-masing labu takar ditambahkan fase gerak campuran 0,1% asam ortofosfat dan asetonitril (80:20 v/v) sampai tanda batas dan kocok hingga homogen sehingga diperoleh konsentrasi deksametason 20, 40, 60, 80, dan 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$.
- c. Kemudian masing-masing larutan disaring dengan membran penyaring *nylon* 0,45 μm , dan diinjeksikan ke sistem KCKT dengan volume penyuntikan 20 μL dideteksi pada panjang gelombang 242 nm dengan laju alir 1,0 mL/menit.
- d. Hasil yang diperoleh dari kromatogram dibuat kurva baku (kalibrasi) kemudian dihitung persamaan regresi linier dan faktor korelasinya (Sairam dkk., 2015).

Validasi

a. Uji Presisi (Ketelitian)

Larutan yang mengandung deksametason 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ diinjeksikan sebanyak 20 μL ke alat KCKT pada kondisi optimum. Percobaan direplikasi sebanyak 6 kali pada Luas area, waktu retensi dan tinggi puncak deksametason dicatat. Selanjutnya dihitung persentase koefisien variasinya (Gandjar dan Rohman, 2007).

b. Uji Akurasi (Ketepatan)

Uji akurasi dilakukan dengan metode penambahan baku (*standard addition method*) melalui uji perolehan kembali pada sampel yang ditambah baku pembanding dengan konsentrasi meliputi 80%, 100% dan 120% dari kadar deksametason dalam obat tradisional. Replikasi dilakukan masing-masing sebanyak 3 kali. Perhitungan perolehan kembali (% recovery) (Snyder dkk., 1997).

c. Uji Linieritas

Persamaan regresi linier yaitu $Y = bx+a$. Uji linieritas (Miller dan Miller, 2005):

1. Larutan stokbaku deksametason dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ diinjeksikan sebanyak 20 μL ke alat KCKT.
2. Luas area deksametason yang diperoleh untuk tiap konsentrasi dibuat persamaan linier dan ditentukan koefisien korelasinya.
3. Uji linieritas dilakukan tiga kali pengulangan.
4. Persamaan regresi terbaik digunakan sebagai persamaan kurva baku untuk menetapkan kadar sampel.

d. Uji Selektivitas

Berdasarkan kromatogram dapat dilihat apakah puncak analit deksametason dan komponen lain dalam obat tradisional terpisah sempurna.

e. Uji Sensitivitas

Uji sensitivitas dinyatakan uji batas deteksi (LOD) dan uji batas kuantifikasi (LOQ). Semakin kecil nilai LOD dan LOQ maka semakin peka pula suatu metode (Miller dan Miller, 1988).

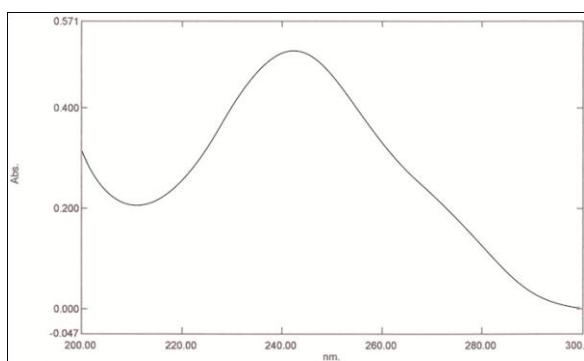
Penetapan Kadar Deksametason dalam Obat Tradisional Pegal Linu

1. Serbuk obat tradisional pegal linu yang ditambahkan deksametason ditimbang seksama.
2. Serbuk dimasukkan ke dalam labu takar 50 mL, kemudian ditambah fase gerak hingga batas tanda, selanjutnya dikocok mekanis 30 menit.
3. Larutan disaring dengan kertas saring Whatman 41.
4. Larutan disaring dengan penyaring nylon 0,45 µm dan diinjeksikan sebanyak 20 µL ke KCKT.
5. Luas puncak yang diperoleh digunakan untuk menghitung kadar berdasarkan kurva baku.
6. Penetapan kadar sampel dilakukan sebanyak enam kali pengulangan.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Optimasi Panjang Gelombang Maksimal Deksametason

Panjang gelombang maksimal ditentukan untuk meningkatkan selektivitas dan sensitivitas senyawa yang dianalisis. Berdasarkan *scanning* pada panjang gelombang 200-400 nm dihasilkan tinggi maksimal spektrum pada 242,5 nm (gambar 1). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Sairam dkk., (2015) dan Heda dkk., (2011) yaitu pada panjang gelombang 242 nm.



Gambar 1. Hasil Optimasi Panjang Gelombang Deksametason

Optimasi Komposisi Fase Gerak

Penentuan hasil optimasi komposisi fase gerak dapat dilihat dari waktu retensi, resolusi (keterpisahan) serta luas puncak deksametason. Resolusi menandakan polaritas keseluruhan pelarut yang dapat memisahkan puncak analit secara sempurna sehingga tidak merusak hasil analisis. Resolusi dipengaruhi oleh faktor selektivitas, selain faktor kapasitas dan nilai plat teori. Salah satu cara untuk mencapai selektivitas yang diharapkan yaitu dengan merubah jenis pelarut untuk fase gerak (Snyder dkk., 1997).

Fase gerak yang terpilih adalah fase gerak dengan perbandingan asetonitril dan 0,1% asam ortofosfat (70:30 v/v) karena dengan perbandingan ini fase gerak dapat memisahkan analit dengan sempurna, jarak pemisahan optimal dan tidak terjadi tailing. Optimasi fase gerak dilakukan pada panjang gelombang 242,5 nm dengan laju alir 1 ml/menit. Sedangkan penelitian yang dilakukan Sairam dkk., (2015) menghasilkan fase gerak yang optimal perbandingan asetonitril dan 0,1% asam ortofosfat (80:20, v/v). Hasil optimasi fase gerak dapat dilihat pada Tabel I.

Tabel I. Hasil optimasi komposisi fase gerak

Komposisi fase gerak	RT (menit)	Luas puncak	Keterangan
80:20	1,603	41347	
75:25	1,397	375412	
70:30	1,353	649737	Optimum

Pembuatan Kurva Baku Deksametason

Pembuatan kurva baku deksametason dilakukan dengan membuat seri konsentrasi larutan baku yaitu 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 µg/ml kemudian diinjeksikan ke system KCKT dengan volume penyuntikan 20 µL, dan dideteksi pada panjang gelombang 242,5 nm dengan laju alir 1 mL/menit. Selanjutnya dibuat persamaan regresi linier antara kadar versus luas area. Persamaan regresi linier deksametason $Y = 23978,197x + 408242,6$ dengan koefisien korelasi $r = 0,999$ kurva

baku yang diperoleh digunakan untuk menghitung deksametason dalam sediaan obat tradisional pegal linu yang ditambahkan deksametason.

Validasi Metode Analisis

Presisi

Hasil uji presisi menghasilkan nilai RSD sebesar 0,321%. Menurut penelitian Sairam dkk., (2015) mempunyai nilai RSD sebesar 1,12%. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa metode analisis yang divalidasi memenuhi persyaratan nilai RSD yang dapat diterima dan menunjukkan ketelitian yang baik yaitu RSD tidak lebih atau sama dengan 2% (Harmita, 2004). Hasil uji presisi deksametason dapat dilihat pada Tabel II.

Tabel II. Hasil uji presisi deksametason

Kadar (ppm)	waktu retensi (menit)	Luas area	Kadar
10	1,353	649847	10,08
10	1,35	650562	10,11
10	1,35	650305	10,10
10	1,35	650202	10,09
10	1,35	648982	10,04
10	1,35	648638	10,03
rata-rata			10,07
SD			0,03
% RSD			0,32%.

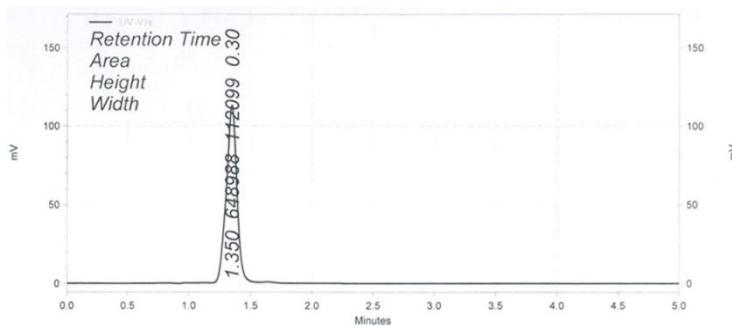
Akurasi (ketepatan)

Penambahan bahan baku deksametason 0,4 mg yang setara dengan 80% dari kadar analit target (0,5 mg) menghasilkan konsentrasi akhir 50 $\mu\text{g/mL}$, rentang nilai perolehan kembalinya adalah 100,07-100,19%. Bahan baku deksametason yang ditambahkan ke dalam sampel dengan jumlah 0,5 mg yang setara dengan 100% dari kadar analit target (0,5 mg) menghasilkan konsentrasi akhir 59 $\mu\text{g/mL}$, rentang nilai perolehan kembalinya adalah 100,06-100,20%. Sedangkan penambahan bahan baku deksametason 0,6 mg yang setara dengan 120% dari kadar analit target (0,5 mg) menghasilkan konsentrasi akhir 70 $\mu\text{g/mL}$, rentang nilai perolehan kembali adalah 100,72-100,80%. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Sairam dkk., (2015) diperoleh nilai akurasi deksametason sebesar 95,67%.

Menurut Gandjar dan Rohman (2012), nilai perolehan kembali untuk senyawa obat dalam campuran yaitu 98-102 %. Berdasarkan hasil akurasi yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa metode analisis pada penelitian ini dapat menghasilkan data kadar deksametason dalam sediaan obat tradisional pegal linu yang dekat dengan kadar yang sebenarnya, sedangkan pada penelitian Sairam dkk., (2015) diperoleh nilai akurasi yang kurang baik karena diluar rentang nilai perolehan kembali yaitu 98-102 %.

Selektivitas

Selektivitas suatu metode adalahukuran seberapa mampu metode tersebut mengukur analit saja dengan senyawa-senyawa lain yang terkandung didalam sampel (Watson, 2010). Selektivitas dinyatakan berdasarkan resolusi (R) antara puncak deksametason dengan puncak komponen lainnya dalam sediaan obat tradisional pegal linu yang ditambahkan deksametason. Nilai resolusi yang semakin besar menunjukkan pemisahan komponen-komponen dalam obat tradisional pegal linu yang terelusi dengan waktu retensi yang berdekatan semakin efisien. Contoh Kromatogram deksametason dalam sediaan obat tradisional pegal linu dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kromatogram deksametason dalam sediaan obatpegal linu

Berdasarkan kromatogram sampel deksametason dalam obat tradisional pegal linu dapat dilihat bahwa hanya deksametason yang terukur sedangkan komponen lain tidak terukur. Maka dapat disimpulkan bahwa metode analisis CKKT yang digunakan memiliki selektivitas yang baik dan mampu menganalisis deksametason tanpa gangguan komponen yang lain dalam sediaan obat tradisional pegal linu.

Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan.Uji linieritas dilakukan pada enam konsentrasi standar baku deksametason, yaitu 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Uji dilakukan tiga kali replikasi penetapan uji didasarkan pada hubungan linieritas antara konsentrasi sampel dengan luas puncak kromatogram.

Ketiga persamaan garis regresi menunjukkan korelasi yang baik dengan koefisien korelasi (r) memenuhi kriteria yaitu lebih besar dari 0,99(Miller dan Miller, 2005). Persamaan regresi linier terbaik berdasarkan nilai r adalah replikasi pertama dengan nilai regresi linier $Y = 23978,197x + 408242,6$ dengan $r = 0,999$. Sedangkan menurut penelitian Sairam dkk., (2015) dihasilkan uji linieritas persamaan $Y = 12388x + 3601$ dengan koefisien korelasi (r) = 0,999.

Sensitivitas

Uji sensitivitas dinyatakan dengan batas dekati (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ).Nilai LOD dan LOQ dalam penelitian ini ditentukan untuk mengetahui batas terkecil konsentrasi analit yang masih diperbolehkan untuk dilakukan analisis.Semakin kecil nilai LOD dan LOQ maka semakin peka pula suatu metode.Pada penelitian ini perhitungan LOD dan LOQ ditentukan berdasarkan persamaan garis regresi linier.Nilai LOD sebesar $0,93\mu\text{g}/\text{mL}$ dan LOQ sebesar $3,09\mu\text{g}/\text{mL}$. Hasil ini lebih kecil dibandingkan penelitian Sairam dkk., (2015) yang memperoleh nilai LOD dan LOQ yaitu sebesar $12,9 \mu\text{g}/\text{mL}$ dan $38,8 \mu\text{g}/\text{mL}$.

Penetapan kadar deksametason dalam obat tradisional pegal linu

Hasil uji penetapan kadar deksametason dalam sediaan obat tradisional pegal linu dapat dilihat dalam Tabel III.

Tabel III. Hasil Penetapan Kadar Deksametason dalam Obat Pegal Linu

Sampel	Luas Puncak	Kadar Deksametason (mg) dalam 7 g Sampel Obat Tradisional Pegal Linu	Kadar Deksametason (%)
1	648988	0,502	100,402
2	648759	0,502	100,306
3	647868	0,500	99,935
4	647578	0,499	99,814
5	648982	0,502	100,399
6	648638	0,501	100,256
Rata-rata		0,501	100,185
SD		0,001	0,250
RSD		0,002	0,25%

Berdasarkan tabel dapat diketahui kadar rata-rata deksametason dalam sediaan obat tradisional pegal linu yaitu 100,19% dengan RSD 0,25. Hasil ini menunjukkan bahwa metode dapat diaplikasikan untuk menetapkan kadar deksametason dalam sediaan obat tradisional pegal linu.

Keseluruhan hasil penelitian ini menunjukkan metode yang tervalidasi. Hal ini dikarenakan semua uji validasi metode analisis yang sudah dilakukan memberikan hasil bahwa semua parameter kinerja analisis memenuhi persyaratan validasi. Sehingga metode dapat diaplikasikan untuk menetapkan kadar deksametason dalam sediaan obat tradisional pegal linu

KESIMPULAN

1. Validasi penetapan kadar deksametason dalam sediaan obat tradisional pegal linu yang ditambahkan deksametason menggunakan KCKT dengan fase diam kolom C₁₈ (Sunfire) (150 nm x 4,6 mm), fase gerak berupa campuran asetonitril dan 0,1% asam ortofosfat (70:30, v/v) dengan laju alir 1 mL/menit, detektor UV (UV-2070 plus) pada panjang gelombang 242,5 nm dapat dilakukan.
2. Uji validasi metode penetapan kadar deksametason memenuhi persyaratan validasi yaitu: uji presisi menghasilkan %RSD 0,321%, uji akurasi menghasilkan perolehan kembali 100,19% - 100,80%, selektivitas yang baik, linieritas dengan nilai korelasinya (*r*) : 0,999, dengan LOD sebesar 0,93µg/mL, dan LOQ sebesar 3,09µg/mL.
3. Metode analisis yang telah divalidasi tersebut dapat diaplikasikan pada penetapan kadar deksametason dalam sediaan obat tradisional pegal linu yang ditambahkan deksametason dengan kadar rata-rata deksametason dalam obat tradisional pegal linu adalah 100,19%.

DAFTAR PUSTAKA

- BPOM RI, 2015, *Obat Tradisional Mengandung Bahan Kimia Obat*, Jakarta : Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- BPOM RI, 2005, Kriteria dan *Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar dan Fitofarmaka*, Jakarta : Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, 02-04.
- Dekkes RI., 2014, *Farmakope Indonesia*, Edisi V, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 276-277.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A., 2007, *Kimia Analisis*, Cetakan I, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 378-394, 456-474.
- Heda, A.A., Karthiriya, M.J., Gadade, D.D., and Puranik, K.P., 2011, Development and Validation of RP-HPLC Method for Simultaneous Determination of Granisetron and Dexamethasone, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73, 696- 699.
- Harmita, 2004, Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1, No. 3, 117-135.
- Miller, J.C and Miller, J.N., 2005, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 5th Edition, Pearson Education Limited, Edinburg Gate, England, 111.
- Miller, J.C. dan Miller, J.N., 1998, *Statistika untuk Kimia Analisis*. Diterjemahkan oleh Drs. Suroso., M.Sc, ITB, Bandung, 111.
- Sairam, V.K., Thejaswini, C.J., Prudhvi Raju, V.M, Chandan, S.R, Gurupadayya, M.B and Mruthunjaya, K., 2015, RP-HPLC Method Development for the Quantitative Determination of Dexamethasone in Herbal Formulation, *World Journal of Pharmaceutical Research*, 04, 1148-1157.
- Snyder, R.L., Kirkland, J.J., and Glajch, J.L., 1997, *Practical HPLC Method Development*, 2nd Edition, John Wiley & Son, Inc., New York, 686-697.
- Waston, D.G., 2010, *Analisis Farmasi Buku Ajar Untuk Mahasiswa Farmasi dan Praktis Kimia Farmasi*, diterjemahkan oleh : Winny R Syarif, EGC, Jakarta.