

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Hasil Penelitian Terdahulu**

Penelitian terdahulu yang relevan dengan permasalahan yang akan diteliti akan dipaparkan pada bagian ini. Penelitian Wirastuti dkk, (2016) mengidentifikasi tentang pemeriksaan kandungan bahan kimia obat (BKO) prednison dengan identifikasi menggunakan KLT-Densitometri pada beberapa sediaan jamu reumatik. Penelitian ini dilakukan terhadap 5 sampel jamu reumatik. Pada penelitian tersebut, terdapat satu jenis jamu yang menunjukkan hasil yang positif terdapat BKO yaitu mengandung prednison dengan kadar yang terkandung adalah 475,421 µg/ml.

Mustarichie dkk, (2017) menganalisis kandungan bahan farmasi terlarang dalam jamu. Penelitian ini dilakukan terhadap 7 sampel jamu antireumatik di pasar menggunakan metode analisis KLT-Densitometri. Tiga di antara 7 sampel tersebut mengandung parasetamol dan deksametason.

Penelitian Jalili dkk, (2015) tentang deteksi senyawa kortikosteroid dan penghambat *phosphodiesterase* (PDH5) sebagai pemalsuan produk herbal yang tersedia di pasar Iran dilakukan dengan metode HPLC. Kandungan beberapa produk untuk peningkatan berat badan dan tinggi badan diselidiki karena adanya campuran zat ilegal atau bahan kimia obat seperti penghambat *phosphodiesterase* (PDH-5). Penelitian dilakukan pada sepuluh sampel ramuan peninggi badan dan penggemuk badan kedua jenis jamu yang diperoleh dari pasar di Iran. Setelah analisis sampel terdapat kandungan sildenafil dan tadalafil dalam 3 kasus ramuan peninggi badan dan deksametason dalam 3 kapsul ramuan penambahan berat badan telah diidentifikasi.

#### **B. Landasan Teori**

##### **1. Obat Tradisional**

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma

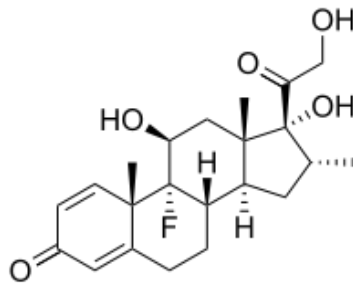
yang berlaku di masyarakat (Permenkes RI No. 007 Tahun 2012). Menurut Pasal 6 Permenkes RI No. 007 Tahun 2012 obat tradisional yang dapat diberikan izin edar harus memenuhi kriteria menggunakan bahan yang memenuhi persyaratan keamanan dan mutu, dibuat dengan menerapkan CPOTB (Cara Pembuatan Obat yang Baik), memenuhi persyaratan Farmakope Herbal Indonesia atau persyaratan lain yang diakui, berkhasiat yang dibuktikan secara empiris, turun temurun, dan/atau secara ilmiah, dan penandaan berisi informasi yang objektif, lengkap, dan tidak menyesatkan.

Sesuai dengan Keputusan Permenkes RI No. 007 Tahun 2012 tentang Registrasi Obat Tradisional, bahwa obat tradisional tidak boleh 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 berkhasiat obat.
- c. Narkotika atau psikotropika.
- d. Bahan lain yang berdasarkan pertimbangan kesehatan dan/atau berdasarkan penelitian membahayakan kesehatan.

## **2. Deksametason**

Deksametason merupakan kortikosteroid yang kuat digunakan sebagai anti inflamasi dan antialergi dengan pencegahan pelepasan histamine. Mekanisme kerja deksametason yaitu dengan cara menembus membran sel sehingga akan terbentuk suatu kompleks steroid-protein reseptor. Di dalam inti sel, kompleks steroid-protein reseptor ini akan berikatan dengan kromatin DNA dan menstimulasi transkripsi mRNA yang merupakan bagian dari proses sintesis protein. Sebagai anti inflamasi, obat ini menekan migrasi neutrofil, mengurangi produksi prostaglandin (senyawa yang berfungsi sebagai mediator inflamasi), dan menyebabkan dilatasi kapiler. Hal ini akan mengurangi respon tubuh terhadap kondisi peradangan (Suherman & Ascobat, 2007).



Gambar 2.1. Struktur deksametason (FI V, 2014)

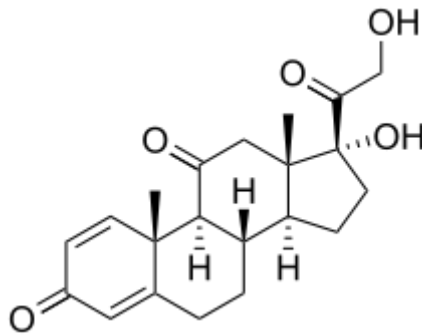
|               |   |
|---------------|---|
| Rumus molekul | : $C_{22}H_{29}FO_5$  |
| Berat molekul | : 392,47  |
| Nama kimia    | : 9-Fluoro-11 $\beta$ ,17,21-trihidroksi-16 $\alpha$ -metilpregna-1,4-diena-3,20-dion   |
| Pemerian      | : Serbuk hablur, putih sampai praktis putih, tidak berbau, stabil diudara. Melebur pada suhu lebih kurang 250° disertai peruraian   |
| Kelarutan     | : Praktis tidak larut dalam air, agak sukar larut dalam aseton, dalam etanol, dalam dioksandan dalam methanol; sukar larut dalam kloroform; sangat sukar larut dalam eter . |

(FI V, 2014).

Penggunaan kortikosteroid sebagai antiinflamasi merupakan terapi paliatif, dalam hal ini penyebab penyakit tetap ada hanya gejalanya yang dihambat. Hal inilah yang menyebabkan obat ini banyak digunakan untuk berbagai penyakit, bahkan disebut sering disebut *life saving drugs*, tetapi juga mungkin menimbulkan reaksi yang tidak diinginkan. Efek samping pemberian deksametason antara lain terjadinya insomnia, osteoporosis, retensi cairan tubuh, glaukoma dan lain-lain (Suherman & Ascobat , 2007).

### 3. Prednison

Prednison adalah glukokortikoid prodrug yang diubah oleh 11 beta-hidroksisteroid dehidrogenase dalam hati ke dalam bentuk aktif, prednisolon. Hal ini digunakan untuk mengobati penyakit radang tertentu (seperti reaksi alergi yang parah) dan (pada dosis tinggi) beberapa jenis kanker, tetapi memiliki banyak efek samping yang signifikan. Hal ini biasanya dilakukan secara oral maupun intramuskular atau secara intravena.



Gambar 2.2. Struktur Prednison (FI V, 2014)

Rumus molekul :  $C_{21}H_{26}O_5$

Berat molekul : 358,43 gr/mol

Nama kimia : 17,21-Dihidroksipregna-1,4-diena-3,11,20-trion

Pemerian : Serbuk hablur putih atau praktis putih, tidak berbau; melebur pada suhu  $230^{\circ}C$  disertai peruraian.

Kelarutan : Sangat sukar larut dalam air, sukar larut dalam etanol, dalam kloroform, sedikit larut dalam dioksan dan dalam metanol. Toleransi dalam 30 menit harus larut tidak kurang dari 80% (Q)  $C_{21}H_{26}O_5$  dari jumlah yang tertera pada etiket

(FI V, 2014).

Prednison merupakan *pro drug*, yang di dalam hati akan segera diubah menjadi prednisolon, senyawa aktif steroid. Senyawa steroid adalah senyawa golongan lipid yang memiliki struktur kimia tertentu yang memiliki tiga cincin sikloheksana dan satu cincin siklopentana. Suatu molekul steroid yang dihasilkan secara alami oleh korteks adrenal tubuh dikenal dengan nama senyawa kortikosteroid (Ikawati, 2006).

Deksametason dan prednison merupakan obat steroid golongan glukokortikoid yang memiliki efek antiinflamasi. Obat ini dapat mencegah atau menekan timbulnya gejala inflamasi. Ada dua penyebab timbulnya efek samping penggunaan kortikosteroid. Efek samping dapat timbul karena penghentian obat secara tiba-tiba atau pemberian terus-menerus terutama dengan dosis besar (Suherman & Ascobat, 2007).

Pemberian kortikosteroid jangka lama yang dihentikan tiba-tiba dapat menimbulkan insufisiensi adrenal akut dengan gejala demam, mialgia,

arthralgia, dan malaise. Hal ini terjadi akibat kurang berfungsinya kelenjar adrenal yang telah lama tidak memproduksi kortikosteroid endogen karena rendahnya mekanisme umpan balik oleh kortikosteroid eksogen. Komplikasi yang timbul akibat pemberian obat dalam jangka waktu lama ialah *sindroma cushing*, osteoporosis yang diinduksi steroid, glaukoma, migrain, nyeri perut, serta peningkatan berat badan gangguan cairan dan elektrolit, hiperglikemia, dan glikosuria (Suherman & Ascobat, 2007)

#### 4. KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi)

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi atau *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) merupakan salah satu teknik kromatografi untuk zat cair yang biasanya disertai dengan tekanan tinggi. Seperti teknik kromatografi pada umumnya, KCKT berupaya untuk memisahkan molekul berdasarkan perbedaan afinitasnya terhadap zat padat tertentu. Cairan yang akan dipisahkan merupakan fase cair dan zat padatnya merupakan fase diam (stasioner). Teknik ini sangat berguna untuk memisahkan beberapa senyawa sekaligus karena setiap senyawa mempunyai afinitas selektif antara fase diam tertentu dan fase gerak tertentu. Dengan bantuan detektor serta integrator akan mendapatkan kromatogram. Kromatogram memuat waktu tambat serta tinggi puncak suatu senyawa (Gandjar dan Rohman, 2007).

Berdasarkan mekanisme pemisahannya, KCKT diklasifikasikan berdasarkan adsorpsi, partisi, pertukaran ion, dan berdasarkan eksklusi ukuran. Pada partisi dibedakan lagi menjadi kromatografi fase normal dan fase terbalik. Pada kromatografi adsorpsi, terjadi interaksi antara solut pada permukaan fase diam, dimana fase diam berupa adsorben polar padat (silika, alumina). Pada kromatografi partisi berdasarkan partisi analit dalam fase gerak cair dan fase diam cair yang tidak saling bercampur dan terikat pada penyangga kolom karena adanya perbedaan kelarutan komponen sampel dalam kedua fase. Pada kromatografi penukar ion, berdasarkan pertukaran anion atau kation pada fase diam dengan solut, sedangkan pada kromatografi eksklusi ukuran, solut dipisahkan berdasarkan ukuran molekul, molekul dengan ukuran besar akan terelusi pertama dari kolom tersebut (Hendayana, 2006).

Pada kromatografi partisi, terdapat perbedaan berdasarkan polarisasi dari fase diam dan fase gerak yaitu: (Hendayana,2006)

a. Fase normal

Pada kromatografi fase normal, fase diam polar sedangkan fase geraknya adalah non polar. Campuran senyawa polar akan tertahan lebih lama di dalam kolom dibandingkan dengan senyawa non polar. Sehingga senyawa non polar akan keluar dari kolom lebih cepat dibandingkan dengan senyawa polar. Fase diam dapat mengandung gugus siano, diol atau amino.

b. Fase terbalik

Pada kromatografi fase terbalik, fase diam bersifat non polar, sedangkan fase geraknya bersifat polar. Fase diam umumnya mengandung senyawa non polar yang memiliki rantai karbon panjang, umumnya gugus n-oktil (C8) atau n-oktadesil (C18), sehingga senyawa polar akan keluar lebih cepat dari kolom.

Pada KCKT harus memperhatikan fase gerak yang akan digunakan diantaranya terdapat beberapa persyaratan fasa gerak KCKT yaitu:

1. Zat cair harus bertindak sebagai pelarut yang baik untuk cuplikan yang akan dianalisis.
2. Zat cair harus benar benar murni untuk menghindari masuknya kotoran yang dapat mengganggu interpretasi kromatogram.
3. Zat cair harus jernih untuk menghindari penyumbatan pada kolom. Biasanya pelarut disaring dengan saringan nilon berukuran diameter pori 0,45  $\mu\text{m}$ . Pompa vakum biasanya digunakan untuk menyaring partikel kotoran sekaligus menghilangkan gas dari pelarut karena gas dapat mengganggu *baseline*.
4. Zat cair harus mudah diperoleh, murah, tidak mudah terbakar, dan tidak beracun.
5. Zat cair tidak kental, umumnya kekentalan tidak melebihi 0,5 cP (Hendayana,2006).
6. Sesuai dengan detektor. Contoh untuk detektor *refractive index* pelarut harus mempunyai indeks bias yang berbeda dengan solut. Untuk detektor UV, pelarut tidak boleh menyerap cahaya pada panjang gelombang yang dipakai.

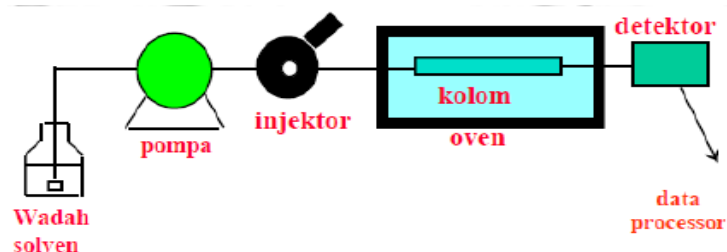
Keunggulan KCKT yaitu :

- a. Waktu analisis cepat. Waktu yang diperlukan biasanya kurang dari 1 jam, seringkali hanya 15 menit hingga 30 menit. Untuk analisis yang mudah waktu yang diperlukan kurang dari 5 menit.
- b. Daya pisahnya baik
- c. Peka (Kepekaan sangat bergantung pada jenis detektor dan eluen yang digunakan)
- d. Pemilihan kolom dan eluen sangat bervariasi
- e. Kolom dapat dipakai kembali
- f. Dapat digunakan untuk molekul besar dan kecil
- g. Mudah untuk memperoleh kembali cuplikan. Tidak seperti kebanyakan detektor dalam kromatografi gas, detektor tidak merusak komponen zat yang dianalisis, sehingga zat yang telah dielusi dapat dikumpulkan dengan mudah setelah melewati detektor.
- h. Dapat menghitung sampel dengan kadar yang rendah (bergantung kepada detektor yang digunakan) (Harmita,2006)

Keterbatasan metode KCKT adalah untuk identifikasi senyawa, kecuali jika KCKT dihubungkan dengan spektrofotometer massa (MS). Keterbatasan lainnya adalah jika sampelnya sangat kompleks, maka resolusi yang baik sulit diperoleh (Gandjar & Rohman, 2007).

### Komponan - Komponen KCKT

Komponen - komponen KCKT dapat dilihat pada diagram Blok KCKT berikut ini:



Gambar 2.3. Diagram Blok KCKT (Putra, 2008).

#### a. *Solvent Reservoir*

Fungsi *solvent reservoir* adalah untuk menampung fase gerak yang akan dialirkan ke dalam kolom dengan bantuan pompa. *Solvent reservoir* biasanya

terbuat dari gelas dengan volume yang bervariasi bergantung dari jumlah atau fase gerak yang dibutuhkan.

b. Pompa (*Pump*)

Fungsi pompa dalam sistem KCKT adalah untuk mendorong fase gerak masuk kedalam kolom. Tekanan pompa yang diperlukan harus cukup tinggi karena kolom KCKT berisi partikel-partikel yang sangat kecil. Pada dasarnya pompa KCKT harus memenuhi persyaratan sebagai berikut:

1. Dapat memompakan fase gerak secara konstan.
2. Mempunyai batas tekanan maksimum yang cukup tinggi (400 Psi).
3. Inert terhadap pelarut-pelarut organik.
4. Mempunyai *noise* yang rendah.
5. Cara kerja sederhana.
6. Mempunyai fluktuasi tekanan yang minimal.

c. Injektor

Fungsi injektor sistem KCKT adalah tempat untuk memasukkan cuplikan dengan bantuan *syringe*. Jenis injektor yang sering digunakan adalah injektor dengan sistem *loop*, yaitu jenis injektor yang menggunakan katup *loop*.

d. Kolom

Pada sistem KCKT kolom merupakan jantung dari sistem KCKT, karena di kolom terjadi pemisahan komponen-komponen sangat bergantung pada kolom yang digunakan. Pemisahan dapat terjadi karena fase diam yang terdapat didalam kolom dapat mengadakan interaksi dengan berbagai komponen dengan kekuatan yang berbeda satu sama lain, sehingga masing-masing komponen akan keluar dari kolom dengan waktu retensi yang juga berbeda.

e. Detektor

Fungsi detektor yaitu untuk mendeteksi komponen-komponen cuplikan hasil pemisahan kolom secara kualitatif dan kuantitatif bergantung pada kebutuhan analisis. Detektor KCKT yang baik harus mempunyai sensitifitas yang cukup tinggi atau mempunyai limit deteksi yang sangat kecil, sehingga dapat memberikan perubahan sinyal yang besar pada perubahan konsentrasi

komponen cuplikan yang kecil. Detektor yang sensitif akan sangat membantu analisis kualitatif maupun kuantitatif, terutama untuk *trace analysis*.

f. Sistem pengolah data (*Recorder/Integrator*)

Sistem KCKT memerlukan recorder (pencatat) sebagai sistem pencatat yang berkualitas baik, dan mampu menampilkan kromatogram dengan jelas, tepat, dan cukup peka.

## 5. Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis adalah proses dimana suatu metode ditetapkan melalui serangkaian uji laboratorium bahwa karakter penampilan metode tersebut memenuhi persyaratan untuk penerapan metode yang dimaksud. Validasi metode digunakan untuk menjamin bahwa metode analisis akurat, spesifik, reproduibel, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis. Beberapa parameter penampilan analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisis adalah sebagai berikut:

a. Linearitas

Linearitas merupakan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan atau menunjukkan hubungan antara respon detektor dengan konsentrasi analit yang diketahui. Linearitas dapat diperoleh dengan mengukur beberapa (minimal 5) konsentrasi standar yang berbeda antara 50-150% dari kadar analit dalam sampel kemudian data diproses slop, intersep dan koefisien korelasi. Koefisien korelasi diatas 0,999 sangat diharapkan untuk suatu metode analisis yang baik (Harmita, 2006).

b. Keseksamaan (*precision*)

Presisi merupakan ukuran kesesuaian dari sekelompok hasil uji secara individual dan independen secara berulang terhadap beberapa sampel yang homogen, dibawah kondisi yang ditetapkan. Presisi dapat didefinisikan sebagai ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relatif dari sejumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik. Kriteria seksama diberikan jika metode

memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi 2% atau kurang (Gandjar & Rohman, 2007).

c. Batas deteksi dan batas kuantifikasi (LOD dan LOQ)

Batas deteksi (LOD) merupakan konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi atau jumlah terkecil analit dalam sampel yang masih memberikan respon yang cukup bermakna atau dapat diukur dibandingkan dengan blanko. Batas kuantifikasi (LOQ) adalah kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memberikan respon yang memenuhi kriteria yang cermat dan seksama. Batas deteksi dan kuantifikasi dapat dihitung secara statistik melalui garis linear dari kurva kalibrasi (Gandjar & Rohman, 2007).

d. Kecermatan (*accuracy*)

Akurasi merupakan ukuran derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Perhitungan perolehan kembali dapat ditetapkan dengan rumus sebagai berikut:

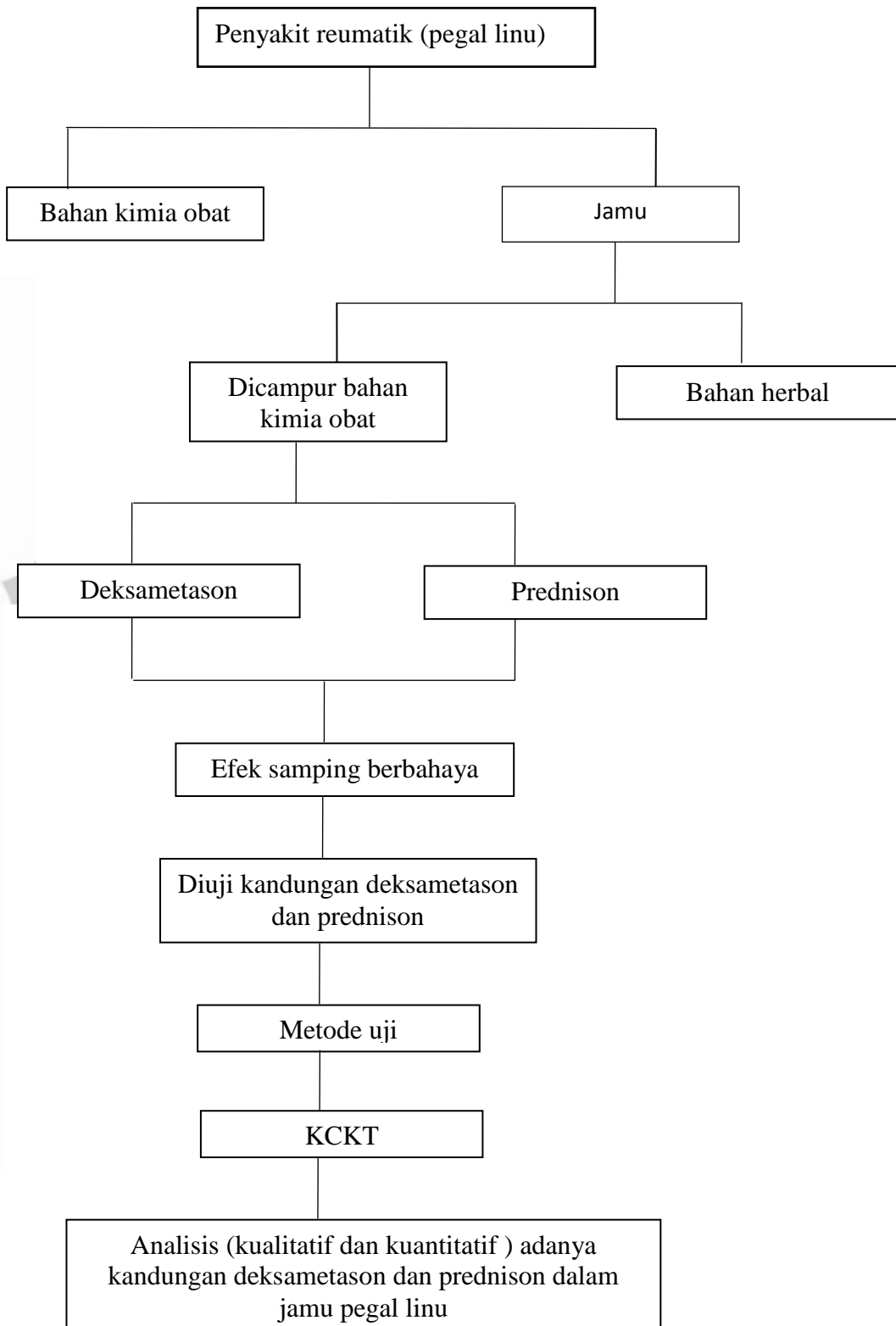
$$\text{Recovery} = \frac{\text{kadar terukur}}{\text{kadar sebenarnya}} \times 100\% \quad (1)$$

Nilai rata-rata perolehan kembali (*recovery*) analit antara 80-120% (Gandjar & Rohman, 2007).

e. Selektivitas (*Selectivity*)

Selektivitas suatu metode adalah kemampuannya yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel. Selektivitas seringkali dapat dinyatakan sebagai derajat penyimpangan (*degree of bias*) metode yang dilakukan terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan berupa cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya, dan dibandingkan terhadap hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan lain yang ditambahkan (Harmita, 2004)

### C. Skema Penelitian



**Gambar 2.4. Skema Penelitian**