

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Jamu

Jamu sudah termasuk dalam kekayaan alam Indonesia, menjadi bagian budaya. Hasil Riset Kesehatan Dasar menunjukkan bahwa penggunaan jamu oleh masyarakat Indonesia lebih dari 50%. Jamu merupakan bagian dari pengobatan tradisional. Pengobatan tradisional telah berkembang secara luas di berbagai negara dan semakin populer. Indonesia kaya akan tanaman obat dan ramuan jamu dari berbagai suku yang tersebar di berbagai wilayah Indonesia mulai Sabang sampai Merauke (Badan Litbang Kesehatan 2010). Jamu adalah obat tradisional Indonesia yang telah banyak digunakan untuk penelitian pada masyarakat Indonesia untuk menjaga kesehatan dan mengobati penyakit. Obat tradisional dilarang mengandung:

- a) 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; dan/atau
- d) Bahan lain yang berdasarkan pertimbangan kesehatan dan/atau berdasarkan penelitian membahayakan kesehatan (Anonim, 2012)

Jamu atau yang dikenal sebagai obat tradisional dilarang dibuat dan diedarkan dalam bentuk sediaan: Intravaginal; Tetes mata; Parenteral; dan Supositoria, kecuali digunakan untuk wasir (Anonim, 2012). Berdasarkan Keputusan Kepala Badan POM RI No HK.00.05.4.2411, obat tradisional Indonesia dikelompokkan menjadi 3, yaitu (BPOM, 2004):

a. Jamu

Jamu merupakan obat tradisional yang terdiri dari beberapa bahan tumbuhan yang disajikan dalam bentuk serbuk seduhan, pil atau cairan yang telah dibuktikan secara empiris dan bersifat turun-temurun serta telah dibuktikan keamanan dan manfaatnya. Logo jamu berdasarkan BPOM ditunjukkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Logo jamu (BPOM, 2015)

b. Obat Herbal Terstandar

Obat Herbal Terstandar merupakan obat tradisional yang dibuat dari hasil ekstraksi atau penyarian bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya melalui pembuktian ilmiah berupa penelitian praklinis dan bahan bakunya telah distandarisasi. Logo obat herbal terstandar berdasarkan BPOM ditunjukkan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Logo obat herbal terstandar (BPOM, 2015)

c. Fitofarmaka

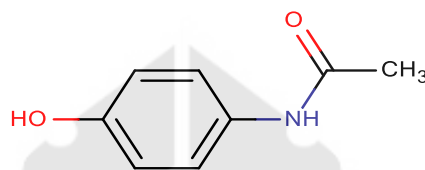
Fitofarmaka merupakan obat tradisional yang tahap pembuatannya telah terstandar dan telah dibuktikan mempunyai khasiat, keamanan dan mutunya melalui pembuktian ilmiah dari tahap uji praklinis sampai uji klinis pada manusia. Logo fitofarmaka berdasarkan BPOM ditunjukkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3. Logo fitofarmaka (BPOM, 2015)

2.1.2 Parasetamol

Parasetamol merupakan obat golongan NSAIDs (*Non-Steroidal Anti Inflammatory Drugs*) derivat para amino fenol (Gunawan, 2011). Parasetamol memiliki kedua efek yang dimiliki obat NSAIDs lainnya, yaitu sebagai analgesik dan antipiretik namun tidak memperlihatkan efek anti inflamasi. Parasetamol bisa ditemukan dalam berbagai sediaan langsung, seperti tablet, kapsul, penggunaan injeksi, supositoria dan sediaan kombinasi dalam OTC (*Over The Counter*) (Bunchorntavakul dan Reddy, 2013). Struktur kimia parasetamol dapat ditunjukkan dengan Gambar 2.4 di bawah ini.



Gambar 2.4. Struktur kimia Parasetamol (Sweetman, 2009).

Parasetamol mempunyai rumus molekul $C_8H_9NO_2$ dengan berat molekul adalah 151,16 g/mol, berat jenis 1,293, titik lebur 169-170°C, titik didih > 500°C. Penampilan parasetamol berupa kristal, berwarna atau bubuk kristal putih, sedikit larut dalam air dingin dan cukup larut dalam air panas (BPOM RI, *at el* 2013). Parasetamol mempunyai dua struktur kimia fungsional yaitu gugus fenol dan *N*-*acetyl-amino*. Gugus fenol parasetamol dapat terionisasi dan $pK_a=9,7$, sedangkan gugus *N*-*acetyl-amino* bersifat netral (Hansen *et al.*, 2012).

Parasetamol memiliki spektrum FTIR yaitu pada bilangan gelombang 3360 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus fungsional N-H amida ulur; 3000 – 3500 cm^{-1} untuk gugus O-H fenolik ulur; disekitar 3000 cm^{-1} untuk gugus C-H; 1840 – 1940 cm^{-1} untuk gugus daerah overton aromatik; 1650 cm^{-1} untuk gugus C=O amida ulur; 1608 cm^{-1} untuk gugus C=C aromatik ulur; 1568 cm^{-1} untuk gugus N-H amida tekuk; 1510 cm^{-1} untuk gugus C=C aromatis ulur; 810 cm^{-1} untuk gugus =C-H ulur (Watson, *et al.*, 1999).

2.1.3 Spektrofotometri FTIR

Spektroskopi FTIR (*fourier transform infrared*) merupakan salah satu teknik analitik yang sangat baik dalam proses identifikasi struktur molekul suatu senyawa. Komponen utama spektroskopi FTIR adalah interferometer Michelson yang mempunyai fungsi menguraikan (mendispersi) radiasi inframerah menjadi komponen-komponen frekuensi. Penggunaan interferometer Michelson tersebut memberikan keunggulan metode FTIR dibandingkan metode spektroskopi inframerah konvensional maupun metode spektroskopi yang lain. Diantaranya adalah informasi struktur molekul dapat diperoleh secara tepat dan akurat (memiliki resolusi yang tinggi). Keuntungan yang lain dari metode ini adalah dapat digunakan untuk mengidentifikasi sampel dalam berbagai fase (gas, padat atau cair). Kesulitan-kesulitan yang ditemukan dalam identifikasi dengan spektroskopi FTIR dapat ditunjang dengan data yang diperoleh dengan menggunakan metode spektroskopi yang lain (Sankari, 2010).

Spektroskopi inframerah merupakan suatu metode yang mengamati interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik yang berada pada daerah panjang gelombang 0.75 – 1.000 μm atau pada bilangan gelombang 13.000 – 10 cm^{-1} . Metode spektroskopi inframerah merupakan suatu metode yang meliputi teknik serapan (*absorption*), teknik emisi (*emission*), teknik fluoresensi (*fluorescence*). Komponen medan listrik yang banyak berperan dalam spektroskopi umumnya hanya komponen medan listrik seperti dalam fenomena transmisi, pemantulan, pembiasan, dan penyerapan. Penyerapan gelombang elektromagnetik dapat menyebabkan terjadinya eksitasi tingkat-tingkat energi dalam molekul. Dapat berupa eksitasi elektronik, vibrasi, atau rotasi (Yudhapratama, 2010).

Prinsip kerja spektrofotometer inframerah adalah fotometri. Sinar dari sumber sinar inframerah merupakan kombinasi dari panjang gelombang yang berbeda-beda. Sinar yang melalui interferometer akan difokuskan pada tempat sampel. Sinar yang ditransmisikan oleh sampel difokuskan ke detektor. Perubahan intensitas sinar menghasilkan suatu gelombang interferens. Gelombang ini diubah menjadi sinyal oleh detektor, diperkuat oleh penguat, lalu diubah menjadi sinyal digital. Pada sistem optik FTIR, radiasi laser diinterferensikan dengan radiasi inframerah agar sinyal radiasi inframerah diterima oleh detektor secara utuh dan lebih baik.

Teknik pengoperasian FTIR berbeda dengan spektrofotometer infra merah. Pada FTIR digunakan suatu interferometer Michelson sebagai pengganti monokromator yang terletak di depan monokromator. Interferometer ini akan memberikan sinyal ke detektor sesuai dengan intensitas frekuensi vibrasi molekul yang berupa interferogram (Khopkar, 2008).

2.1.4 Kromatografi Lapis Tipis KLT- Densitometri

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah bentuk kromatografi planar dengan fase diam berupa lapisan yang seragam pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, plat aluminium, atau plat plastik serta fase gerak berupa cairan yang bergerak sepanjang fase diam. KLT adalah bentuk teknik pemisahan yang sering digunakan dalam proses pemurnian dan identifikasi senyawa kimia. Prinsip KLT tersebut sendiri adalah pemisahan komponen berdasarkan distribusinya pada fase diam dan fase gerak. Cuplikan atau sampel diteteskan pada lapisan tipis setelah itu dimasukkan ke dalam wadah pengembangan yang berisi fase gerak sehingga cuplikan tersebut terpisah menjadi komponen-komponennya. Identifikasi analisis kualitatif pada KLT berdasarkan penampakan dan nilai R_f (jarak relatif komponen terhadap jarak pelarut) yang setelah itu dibandingkan dengan spot standar (Hahn-Deinstrop, 2007).

Komponen yang ada pada KLT densitometer terdiri dari peralatan sumber cahaya, sistem kondensor, sistem fokus, sistem grating, dan filter yang berfungsi mengatur panjang gelombang yang masuk. KLT densitometer juga dapat digunakan untuk keperluan analisis kualitatif maupun kuantitatif. Prinsip percobaan alat tersebut bertujuan untuk mengukur intensitas transmitan, fluoresensi, atau reflektan. Mekanisme yang terjadi adalah sinar yang mengenai spot akan diserap oleh molekul untuk tereksitasi, selanjutnya molekul akan kembali ke keadaan dasar dengan adanya emisi pada sinar tersebut (fluoresensi) dan akan ditangkap oleh detektor. Metode ini dapat digunakan untuk menetapkan banyaknya komponen yang terdapat dalam suatu campuran, mengidentifikasi zat, atau memantau proses reaksi yang memiliki akurasi cukup tinggi (Hahn et al., 2007).

2.1.5 Kemometrika

Analisis kemometrika dengan teknik *Partial Least Square* (PLS), *Linear Discriminant Analysis* (LDA), *Soft Independent Modelling of Class Analogies* (SIMCA) dan *Support Vector Machine* (SVM) merupakan teknik analisis multivariat yang bisa digunakan untuk penentuan multikomponen. Keuntungan teknik ini ialah dapat mengeliminasi spektrum pengganggu dalam kuantifikasi, meningkatkan selektivitas (Rasyida et al., 2014). Keuntungan dari penggunaan teknik kemometrika untuk interpretasi spektrum IR adalah kemampuannya dalam mengaitkan profil spektrum dengan informasi tersembunyi yang dikandung oleh sampel (Zou et al., 2005).

Kemometrika biasa digunakan untuk menemukan korelasi statistik antara data spektrum dan informasi yang telah diketahui dari suatu contoh. Metode kemometrika memungkinkan penggunaan model analisis multivariat dalam penerapannya, yaitu model yang melibatkan lebih dari satu masukan (variabel x) untuk menghasilkan suatu efek tertentu (variabel y). Dalam spektrum FTIR, sumbu y merupakan absorbansi atau persen transmittan, sementara sumbu x merupakan bilangan gelombang (cm^{-1}) didalam metode analisis kualitatif, baik absorbansi atau transmittan dapat digunakan, sedangkan dalam metode analisis kuantitatif yang digunakan berupa absorbansi dan bukan transmittan. Sebab absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi sebagaimana ditunjukkan oleh persamaan hukum Lambert-Beers's. Sementara itu, transmittan tidak berbanding lurus dengan konsentrasi, melainkan memiliki hubungan logaritma terbalik seperti pada persamaan berikut: $A = \log (1/T)$ atau $\epsilon bc = \log (1/T)$ atau $T = 10^{-A}$. Hubungan tersebut bukan merupakan hubungan yang linier, sehingga spektrum dengan pola transmittan tidak sesuai untuk digunakan dalam analisis kuantitatif (Rohman, 2014). Keunggulan kalibrasi multivariat PLS yang dimiliki berupa menggunakan semua data spektral penuh untuk pemisahan campuran multikomponen prosedur analisis dapat dilakukan dalam waktu singkat, biasanya tanpa pemisahan fisik, dan model kalibrasinya hanya mengolah konsentrasi analit yang diinginkan (Rohman, 2012).

PCA dan PLS-DA merupakan contoh model multivariat. (Rohman., 2012). kalibrasi multivariat secara umum mempunyai beberapa tahap kalibrasi yang tahap tersebut diikuti validasi dengan validasi sampel secara terpisah atau dengan validasi

silang dengan teknik *leave one out* dan tahap prediksi (sampel baru). Hasil dari tahap kalibrasi dan validasi yang digunakan apabila memenuhi kriteria korelasi yang tinggi serta tingkat kesalahannya rendah, maka selanjutnya model yang dikembangkan digunakan untuk mengestimasi konsentrasi campuran dari sampel yang belum diketahui konsentrasinya (Miller and Miller, 2010).

2.1.6 Validasi Metode

Validasi terhadap suatu metode analisa menjadi faktor penting karena hanya metode analisa yang telah dibuktikan validitasnya maka hasil pengukurannya bisa dipertanggung jawabkan dan dipergunakan sebagai landasan dalam perhitungan berikutnya. Beberapa parameter dalam melakukan validasi tersebut meliputi linieritas, selektivitas, ketelitian, ketepatan, *limit of detection* (LOD) dan *limit of quantification* (LOQ). Parameter linieritas menggambarkan hubungan yang linier antara konsentrasi dan serapan sehingga persamaan yang diperoleh dapat dipergunakan untuk menghitung konsentrasi zat aktif dalam sampel yang diketahui serapannya (Anonim., 2006).

Sedangkan parameter selektivitas menggambarkan kemampuan metode analisa untuk memisahkan zat aktif dari komponen lainnya, ketelitian menggambarkan kedekatan hasil uji dalam beberapa kali pengulangan, ketepatan menggambarkan kedekatan hasil uji dengan nilai yang sesungguhnya, *limit of detection* menggambarkan jumlah minimal yang mampu dideteksi oleh metode analisa dan *limit of quantification* menggambarkan jumlah minimal yang mampu dideteksi oleh metode analisa yang dapat dipertanggung jawabkan secara kuantitatif (Miller and Miller, 2010).

Metode validasi menggunakan spektroskopi inframerah yang dikombinasikan dengan kalibrasi multivariat dilakukan dengan teknik *leave one out*. Kalibrasi mengacu pada hubungan antara jumlah atau kadar sampel X dan fungsi terukur Y yang dapat berupa spektrum. Keandalan analisis multikomponen harus divalidasi sesuai dengan kriteria yang umum yaitu akurasi dan presisi. Dalam metode kalibrasi multivariat, harus dijauhkan dari ko-linearitas variabel yang disebabkan oleh konsentrasi sampel kalibrasi (Danzer *et al.*, 2004).

Hasil ketidakpastian dari model kalibrasi dan validasi yang didapat dihitung sebagai nilai *Root Mean Standard Error of Calibration* (RMSEC) dan *Root Mean Squared Error Cross Validation* (RMSECV). Hasil *Predicted Residual Error Sum of Squares* (PRESS) digunakan sebagai parameter presisi. RMSEC menunjukkan selisih kadar prediksi dengan kadar aktual sampel kalibrasi, sehingga jika nilai RMSEC semakin kecil maka model tersebut dapat dikatakan semakin baik karena faktor kesalahannya semakin kecil (Danzer *et al*, 2004). Hasil selisih antara kadar prediksi dan kadar aktual dari setiap sampel dihitung, kemudian dihitung jumlah kuadrat dari selisih tadi sebagai PRESS yang merupakan salah satu indikator kebaikan model yang menggambarkan kemampuan prediksi. Semakin rendah nilai PRESS maka kemampuan model untuk memprediksi semakin baik (Rohman and Che Man, 2011). RMSECV juga mampu menggambarkan prediksi. Nilai RMSECV dapat ditentukan dari nilai PRESS, semakin kecil nilai RMSECV maka kemampuan model untuk memprediksi semakin baik.

Hasil nilai akurasi diketahui dari ada tidaknya suatu kesalahan sistematik yang digambarkan oleh nilai *recovery*. Kadar yang diprediksi dengan model C dibandingkan dengan kadar aktual sampel validasi (c) dan dapat ditunjukkan dengan persamaan regresi berikut: $C = \alpha + \beta c$, koefisien regresi bersifat ideal jika nilai $\alpha = 0$ dan $\beta = 1$. Koefisien determinasi mencerminkan seberapa besar kemampuan variabel bebas dalam memprediksi varians variabel terikat. Parameter R² mempunyai nilai antara 0-1, yang mana nilai R² mendekati 1 menunjukkan bahwa kemampuan memprediksi semakin baik karena semua variasi variabel respon (absorbansi) dapat diterangkan oleh variabel prediktor sehingga nilai terprediksi mendekati nilai aktual (Danzer *et al*, 2004).

2.2 Landasan Teori

Jamu adalah obat tradisional Indonesia yang digunakan sejak dahulu secara luas oleh masyarakat Indonesia sebagai upaya preventif untuk menjaga kesehatan maupun sebagai pengobatan suatu penyakit. Salah satu jamu yang sering digunakan masyarakat adalah jamu pegal linu. Kebutuhan masyarakat yang besar terhadap produk jamu pegal linu sering disalahgunakan produsen jamu untuk menambahkan bahan kimia obat salah satunya adalah parasetamol. Parasetamol merupakan obat

golongan NSAIDs (Non-Steroidal Anti Inflammatory Drugs) derivat yang apabila digunakan dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping berupa peradangan hati dan merusak organ ginjal (BPOM, 2010). Sehingga perlu dilakukannya penelitian terkait analisis parasetamol dalam jamu pegal linu dengan metode spektrofotometri FTIR dikombinasikan dengan kalibrasi multivariat partial least square PLS, untuk menjaga keamanan, khasiat dan mutu suatu jamu atau obat tradisional.

Penelitian terkait metode analisis parasetamol sudah banyak dilakukan di masyarakat dengan menggunakan metode KLT, KCKT, dan spektrofotometri UV. tetapi metode yang memiliki penetapan kadar yang sederhana dan murah, salah satunya adalah metode FTIR (Hughes et al., 2013). Beberapa penelitian membuktikan bahwa teknik FTIR dapat digunakan untuk mengkuantifikasi beberapa obat secara simultan (Hughes et al., 2013). Pemilihan FTIR sebagai metode analisis didasarkan pada kecepatan analisis, kemudahan metode analisis, biaya dan ketersediaan alat, serta waktu yang relatif singkat. Kelebihan lainnya dapat digunakan pada semua frekuensi dari sumber cahaya secara simultan sehingga analisis dapat dilakukan lebih cepat dari pada menggunakan cara sekuensial atau scanning. (Hughes et al., 2013).

Kombinasi metode analisis spektrofotometri FTIR dengan kemometrika PLS bertujuan untuk mengekstrak informasi dari spektra yang kompleks dengan puncak-puncak yang tumpang tindih, adanya impurities, noise dan mampu menggunakan informasi spektra yang luas dan menghubungkan kontribusi spektra lain yang dapat mengganggu analisis (Rohman, 2014). Metode analisis spektrofotometri FTIR yang dikombinasi dengan kemometrika PLS dapat menghasilkan keuntungan berupa hasil akurasi dan presisi yang tinggi untuk pemisahan campuran multikomponen, selain itu model kalibrasinya hanya mengolah konsentrasi analit yang diinginkan (Rohman et al., 2015).

Absorbansi yang direkam dalam pembacaan spektrum FTIR dapat digunakan untuk menentukan kandungan parasetamol yang terdapat dalam sampel jamu pegal linu berdasarkan Hukum Lambert-Beer's, yang menghubungkan antara absorbansi dengan konsentrasi sampel berbanding lurus. Kombinasi spektrofotometri FTIR dengan kalibrasi multivariat PLS mampu menganalisis data spektra kompleks yang

dihasilkan dari pemisahan multikomponen serta dapat mengolah analit yang diinginkan dengan tingkat akurasi dan presisi yang baik. Validasi metode analisis perlu dilakukan untuk memastikan bahwa metode tersebut sesuai dengan penggunaannya dan memberikan hasil pengujian yang valid. Parameter validasi metode analisis Spektrofotometri FTIR yang dikombinasi dengan kalibrasi multivariat PLS meliputi R^2 untuk menyatakan nilai akurasi dan nilai RMSEC, RMSECV, serta PRESS untuk menyatakan nilai presisi.

2.3 Hipotesis

1. Metode spektrofotometri FTIR dapat digunakan untuk menentukan kandungan parasetamol dalam jamu pegal linu.
2. Spektrum yang dihasilkan oleh profil spektra FTIR dapat mempresentasikan parasetamol dalam jamu pegal linu secara spesifik pada bilangan gelombang tertentu.
3. Nilai parameter validasi metode analisis Spektrofotometri FTIR yang dikombinasikan dengan kalibrasi multivariat *Partial Least Square* (PLS) dapat memenuhi persyaratan validasi.

