



Pengembangan dan Validasi Metode KLT-Densitometri untuk Analisis secara simultan Parasetamol, Asam Mefenamat dan Ibuprofen dalam Jamu “Pegel Linu”

(Development and Validation of TLC-Densitometric Method for Analysis of Paracetamol, Mefenamic Acid and Ibuprofen simultaneously in “Pegel Linu” Traditional Medicines)

Hayun*, & Mulia Ade Karina

Fakultas Farmasi Universitas Indonesia

Keywords:

Ibuprofen; mefenamic acid; paracetamol; pegel linu herbal medicine; TLC-densitometry; validation.

Kata kunci:

Asam mefenamat; ibuprofen; parasetamol; jamu pegel linu; KLT-densitometri; validasi.

ABSTRACT: Jamu is a traditional or herbal medicine that is widely used by Indonesian people for prevention, maintenance and treatment of diseases. Traditional medicines contain plants or extracted plant material, or combinations thereof. The adulteration practice violates the laws. However, the presence of undeclared synthetic chemical drugs in the herbal products are still often found, among others, analgesic and anti-inflammatory drugs. The purpose of this study is to obtain a validated, simpler and lower operational cost of TLC-densitometric method to analyze paracetamol, mefenamic acid and ibuprofen in herbal medicines in “pegel linu” herbal medicines. The samples were extracted with ethanol, then separated over silica gel GF254 TLC plate with mixture of chloroform-ethanol (8:1) as mobile phase and analyzed using TLC-densitometry. The method has a satisfactory specificity and linearity, and met the precision and accuracy criteria at the concentration of 1500 ng/spot for paracetamol, 1250 ng/spot for mefenamic acid, and 2000 ng/spot for ibuprofen. The results of the determination of eight samples showed that four of them were positive containing paracetamol with the concentration of 337.12 - 505.55 mg/single dosage.

ABSTRAK: Jamu merupakan obat tradisional yang banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk pencegahan, pemeliharaan dan pengobatan penyakit. Obat tradisional mengandung bahan tumbuhan atau hasil sarian atau campurannya. Praktek penambahan bahan kimia obat (BKO) adalah perbuatan melawan hukum. Namun masih banyak ditemukan BKO dalam produk jamu, antara lain obat analgetika dan anti inflamasi. Penelitian ini bertujuan memperoleh metode KLT-densitometri yang tervalidasi, lebih sederhana dan lebih rendah biaya pelaksanaannya untuk menganalisis parasetamol, asam mefenamat dan ibuprofen dalam jamu “pegel linu”. Sampel diekstraksi dengan etanol, kemudian dipisahkan di atas lempeng KLT silika gel GF254 dengan fase gerak campuran kloroform-etanol (8:1) dan dianalisis dengan menggunakan KLT-densitometri. Metode mempunyai spesifisitas, dan linieritas yang memuaskan, dan memenuhi kriteria presisi dan akurasi pada konsentrasi 1500 ng/bercak untuk parasetamol, 1250 ng/bercak untuk asam mefenamat, dan 2000 ng/bercak untuk ibuprofen. Hasil analisis delapan sampel menunjukkan empat diantaranya positif mengandung parasetamol dengan kandungan 337,12-505,55 mg/dosis tunggal pemakaian.

*Corresponding Author: Hayun (Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok 16424, Indonesia)
email: hayun.ms06@gmail.com

Article History:
Received: 20 Mar 2016
Published: 1 May 2016

Accepted: 22 Mar 2016
Available online: 28 Aug 2016

PENDAHULUAN

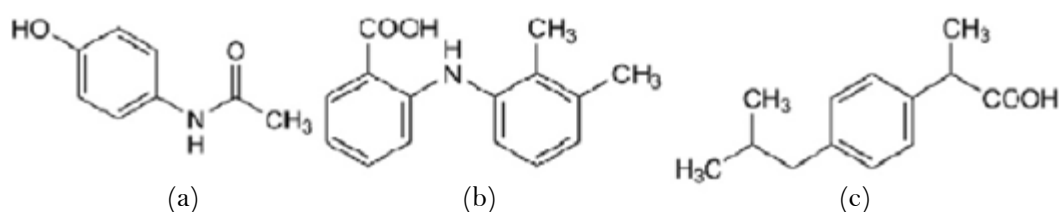
Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik), atau campuran dari bahan tersebut [1]. Kecenderungan masyarakat Indonesia menggunakan obat tradisional (lebih dikenal dengan nama jamu) sebagai alternatif dalam upaya pemeliharaan, peningkatan dan penyembuhan penyakit semakin meningkat [2]. Peningkatan ini disebabkan adanya persepsi bahwa jamu lebih aman dari obat sintetik. Namun demikian persepsi tersebut tidak selalu benar karena masih sering ditemukan adanya penambahan ilegal bahan kimia obat (BKO) ke dalam jamu [3,4]. Penggunaan jamu mengandung BKO dalam jangka panjang dapat menimbulkan risiko efek samping yang serius. Oleh karena itu, Menteri Kesehatan Republik Indonesia telah melarang penambahan bahan kimia sintetik atau hasil isolasi yang berkhasiat obat ke dalam obat tradisional [1].

Obat analgetika dan anti inflamasi non-steroid (AINS) merupakan salah satu kelompok obat yang banyak sekali digunakan masyarakat, baik dengan resep maupun tanpa resep dokter, untuk mengurangi rasa nyeri dan inflamasi pada penyakit rematik [5]. Beberapa obat penghilang rasa nyeri dan rematik sering ditambahkan ke dalam jamu pegel linu untuk meningkatkan efek jamu tersebut [4]. Berbagai macam obat analgetika dan AINS beredar di pasaran, diantaranya parasetamol, asam mefenamat dan ibuprofen (Gambar 1).

Efek utama parasetamol adalah analgetika dan antipiretika, sedangkan efek antiinflamasinya lemah. Parasetamol tidak meredakan kekakuan

dan pembengkakan. Obat ini sangat aman jika digunakan dengan dosis yang dianjurkan. Dosis umum untuk dewasa 325-650 mg setiap 4-6 jam. Dosis lebih besar dari 2,6 g per hari tidak dianjurkan karena berpotensi hepatotoksisitas [5,6]. Asam mefenamat dan ibuprofen, sebagaimana obat-obat AINS lainnya dapat menyebabkan efek samping gangguan saluran pencernaan atau iritasi lambung, terutama jika digunakan dengan dosis tinggi atau dikonsumsi dalam jangka panjang. Dosis umum asam mefenamat untuk dewasa dan anak berusia di atas 14 tahun: 500 mg tiga kali sehari dari awal nyeri hingga maksimal tujuh hari, sementara dosis umum ibuprofen untuk dewasa dan anak-anak berusia di atas 12 tahun: 200-400 mg tiga hingga empat kali sehari [6].

Untuk melindungi masyarakat, pemerintah harus secara rutin melakukan pengujian BKO dalam jamu yang beredar di pasaran. Sejumlah metode analisis BKO dalam jamu telah banyak dikembangkan, antara lain kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)-UV/DAD, kromatografi cair-MS/MS, kromatografi-NMR, Kromatografi lapis tipis (KLT)-densitometri [7]. Metode KLT merupakan metode yang sederhana, cepat dan murah sehingga banyak digunakan untuk analisis obat, termasuk analisis BKO dalam jamu [8]. Dewasa ini, metode ini dilengkapi dengan alat penotol otomatis, perangkat pengembangan yang canggih, pemindai densitometer dan sistem video dokumentasi, sehingga reliabilitas, sensitivitas, presisi dan akurasi hasil analisisnya meningkat [9]. Metode KLT-densitometri untuk analisis beberapa obat analgetika dan AINS dalam obat herbal telah dikembangkan [9], namun sampel yang dianalisis bukan obat tradisional Indonesia. Obat herbal



Gambar 1. Struktur kimia: (a) parasetamol, (b) asam mefenamat, dan (c) ibuprofen.

berbagai negara umumnya mengandung bahan alami yang berbeda-beda. Ini merupakan penyebab suatu metode analisis tidak dapat diaplikasikan pada sampel dari negara lain [9].

Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh metode alternatif KLT-densitometri tervalidasi yang lebih murah dan sederhana untuk analisis serentak parasetamol, asam mefenamat, dan ibuprofen dalam jamu pegel linu yang beredar di pasaran, dengan menggunakan sampel dari Indonesia.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan adalah timbangan analitik, chamber gelas, pipa kapiler 2,0 μ L, Nanomat (Camag), TLC-Scanner III (Camag) dan alat-alat gelas yang biasa dipergunakan dalam laboratorium.

Bahan-bahan yang digunakan adalah: lempeng aluminium KLT silika gel GF254 (Merck), senyawa baku: parasetamol (PT. Riasima Abadi Farma), asam mefenamat (Baoji Tianxin Pharmaceutical) dan ibuprofen (Biocause Pharmaceutical); pelarut: etanol p.a, kloroform p.a, metanol p.a, aceton p.a, toluen p.a dan eter p.a (Merck); dan sampel jamu pegel linu: DM, AN, WT, AS, XL, NM, JJ, SM. Sampel dibeli dari beberapa toko di Kelurahan Sumur Batu, Kecamatan Kemayoran, Wilayah Kota Jakarta Pusat, DKI Jakarta.

Cara Kerja

Pembuatan larutan baku dan campuran larutan baku zat uji.

Larutan baku dibuat dengan menimbang saksama senyawa baku parasetamol, asam mefenamat dan ibuprofen masing-masing lebih kurang 100, 75 dan 62,5 mg dan melarutkannya dengan etanol hingga 10,0 ml sehingga diperoleh larutan induk parasetamol, asam mefenamat dan ibuprofen masing-masing dengan konsentrasi

10000 ppm, 7500 ppm dan 6250 ppm. Kemudian masing-masing dipipet 1,0 ml, dimasukkan ke dalam labu takar 10 ml yang berbeda dan yang sama dan masing-masing dicukupkan volumenya dengan etanol, sehingga didapatkan larutan baku masing-masing dan campuran dari ketiganya dengan konsentrasi berturut-turut 1000, 750 dan 625 ppm.

Pembuatan larutan sampel

Ditimbang 1/40 bobot kemasan jamu, lalu dimasukkan ke dalam labu 10 ml, dicukupkan volumenya dengan etanol. Didiamkan selama 10 menit hingga bagian tidak larut mengendap sempurna. Bagian terlarut dari sampel diambil dengan spuit dan digunakan sebagai larutan sampel.

Pembuatan larutan sampel blanko adisi

Dilakukan seperti pembuatan larutan sampel, namun sebelum dicukupkan volumenya dengan etanol, ditambahkan terlebih dahulu larutan induk parasetamol, asam mefenamat dan ibuprofen masing-masing 1,0 ml.

Instrumentasi dan kondisi analisis

Analisis dilakukan dengan menggunakan lempeng KLT aluminium yang dilapisi silika gel 60 GF254 dengan ketebalan 250 μ m (E.Merck). Lempeng KLT dipotong dengan ukuran 10 cm x 4-10 cm bergantung pada jumlah larutan sampel/baku yang akan dianalisis. Larutan sampel/baku ditotolkan pada lempeng KLT menggunakan Nanomat yang dilengkapi pipa kapiler 2 μ l (Camag). Jarak antar bercak adalah 1 cm. Lempeng dielusi sampai ketinggian sekitar 7 cm dalam chamber gelas yang sebelumnya telah dijenuhkan dengan uap fase gerak. Fase gerak yang digunakan adalah salah satu dari campuran berikut: kloroform-aseton (4:1), toluen-etanol (7:3), diklorometan-metanol (4:1), dan kloroform-etanol (9:1; 8:1; dan 7:1), yang dapat memisahkan paling baik ketiga senyawa pada rentang Rf 0,2-0,8. Pemindaian (scanning) densitometrik dilakukan pada 222 nm

dengan KLT-densitometri "TLC-Scanner III" yang dilengkapi perangkat lunak CATS. Dimensi celah 8 mm x 0,4 mm dan kecepatan pemindaian 10 mm per detik.

Validasi Metode

Validasi metode dilakukan dengan mengacu pada petunjuk ICH Q2/2005 [10], meliputi spesifisitas, linearitas, batas deteksi (LOD), batas kuantitasi (LOQ), presisi dan akurasi.

1. Spesifisitas/Selektifitas. Dilakukan dengan membandingkan kromatogram hasil analisis larutan jamu yang tidak mengandung senyawa obat, jamu yang diadisi dan larutan baku uji. Metode memenuhi syarat selektif apabila pada R_f zat-zat uji, kromatogram KLT-densitometri sampel blanko jamu tidak terdapat puncak kromatogram.
2. Linieritas. Linieritas dievaluasi dengan menentukan koefisien korelasi (r) dari analisis regresi linier ($y = bx + a$) dari kurva kalibrasi hubungan antara luas puncak kromatogram bercak dengan konsentrasi zat uji, pada rentang konsentrasi 900-3000 ng/bercak untuk parasetamol, 1000-2500 ng/bercak untuk asam mefenamat dan 400-4000 ng/bercak untuk ibuprofen
3. Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ). LOD dan LOQ ditentukan dengan menggunakan data standar deviasi respon dan slope kurva kalibrasi. LOD dan LOQ dihitung masing-masing dengan persamaan $3.3 \sigma/S$ dan $10 \sigma/S$. σ adalah standar deviasi dari intersep- y garis regresi. S adalah slope kurva kalibrasi.
4. Presisi. Presisi diperoleh dengan melakukan uji repeatabilitas dan presisi intermediate. Repeatabilitas (presisi dalam hari) dievaluasi dengan menentukan masing-masing enam kali penentuan banyaknya (ng) parasetamol, asam mefenamat dan ibuprofen baku pada tiga konsentrasi yang berbeda, berturut-turut 1200, 1500 dan 1800 ng/bercak; 1000, 1250 dan 1500 ng/bercak, dan 400, 800, 2000 ng/

bercak. Presisi intermediate dinilai dengan mengulangi penentuan masing-masing enam kali dalam dua hari berikutnya. Nilai relatif standar deviasi (RSD) repeatabilitas dan presisi intermediate dihitung.

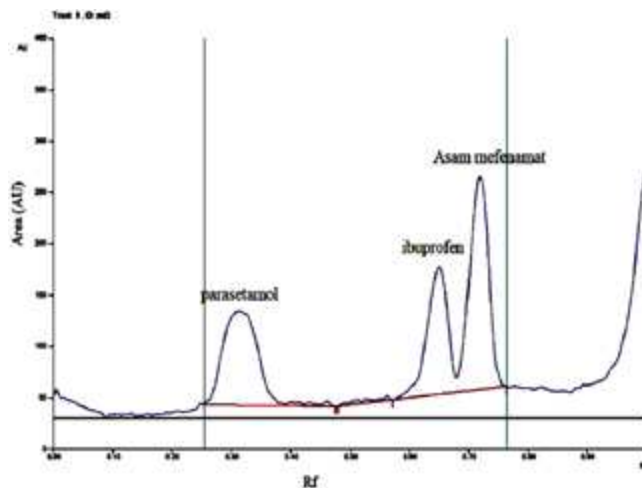
5. Akurasi. Akurasi ditentukan dengan melakukan uji perolehan kembali sejumlah tertentu baku parasetamol, asam mefenamat, dan ibuprofen yang ditambahkan pada sampel blanko (sampel yang tidak mengandung senyawa obat), masing-masing pada tiga konsentrasi yang berbeda yaitu 1200, 1500 dan 1800 ng/bercak untuk parasetamol, 1000, 1250 dan 1500 ng/bercak untuk asam mefenamat, dan 400, 800 dan 1000 ng/bercak untuk ibuprofen. Percobaan dilakukan masing-masing enam kali dan rata-rata persen perolehan kembali dihitung.

Identifikasi dan penetapan kadar zat uji dalam sampel Jamu

Larutan sampel, sampel blanko adisi dan baku ditotolkan pada lempeng KLT yang sama, dielusi dan dianalisis dengan metode yang diusulkan. Identifikasi zat uji dilakukan dengan membandingkan kesesuaian nilai R_f dan spektrum serapan bercak dari sampel dengan nilai R_f dan spektrum serapan bercak senyawa baku dari larutan sampel adisi dan larutan baku. Banyaknya atau konsentrasi zat uji dalam sampel dihitung dari luas puncak bercak yang diperoleh. Masing-masing sampel dianalisis tiga kali. Hasil yang diperoleh merupakan rata-rata kandungan zat uji dalam satu dosis tunggal sampel.

HASIL DAN DISKUSI

Obat analgetika dan AINS sering ditambahkan secara ilegal pada jamu "pegel linu". Parasetamol, asam mefenamat dan ibuprofen merupakan obat analgetika dan AINS yang banyak dikenal dan digunakan masyarakat, sehingga kemungkinan obat tersebut sebagai salah satu yang ditambahkan pada jamu "pegel linu" sangat besar. Metode

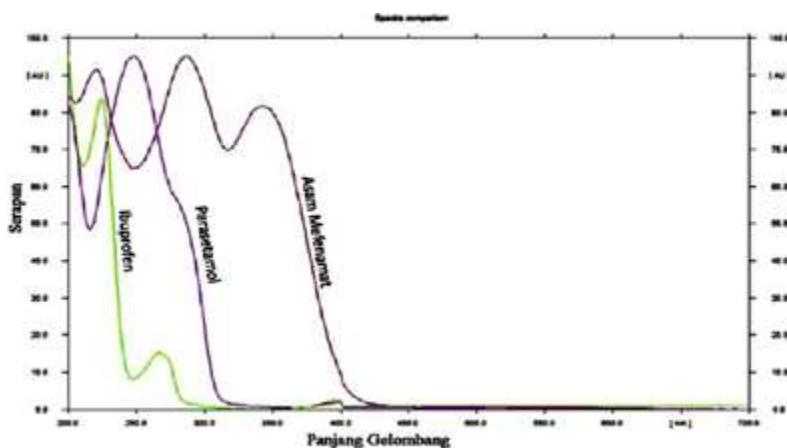


Gambar 2. Kromatogram KLT-densitometrik campuran parasetamol, asam mefenamat dan ibuprofen pasca pemisahan dengan fase gerak campuran kloroform-metanol (8:1)

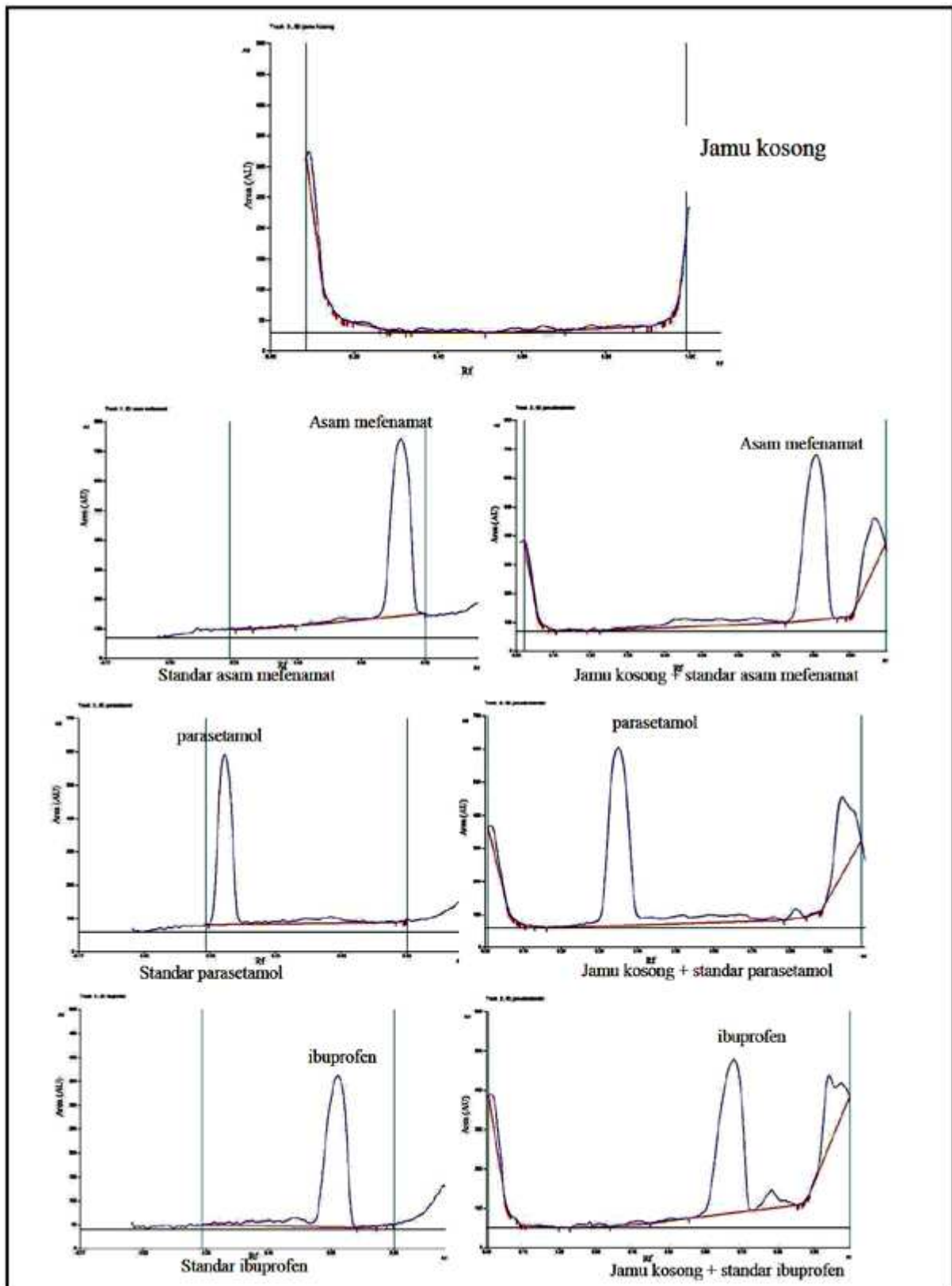
Tabel 1. Nilai Rf KLT zat uji dengan berbagai fase gerak

Fase Gerak	Zat uji		
	(a)	(b)	(c)
Kloroform : Aseton (4:1)	0,25	0,89	0,84
Toluen : Etanol (7:3)	0,72	0,60	0,78
Diklorometan : Metanol (4:1)	0,90	0,93	-
Kloroform : Etanol (9:1)	0,43	0,82	0,78
(8:1)	0,31	0,75	0,68
(7:1)	0,13	0,67	0,58

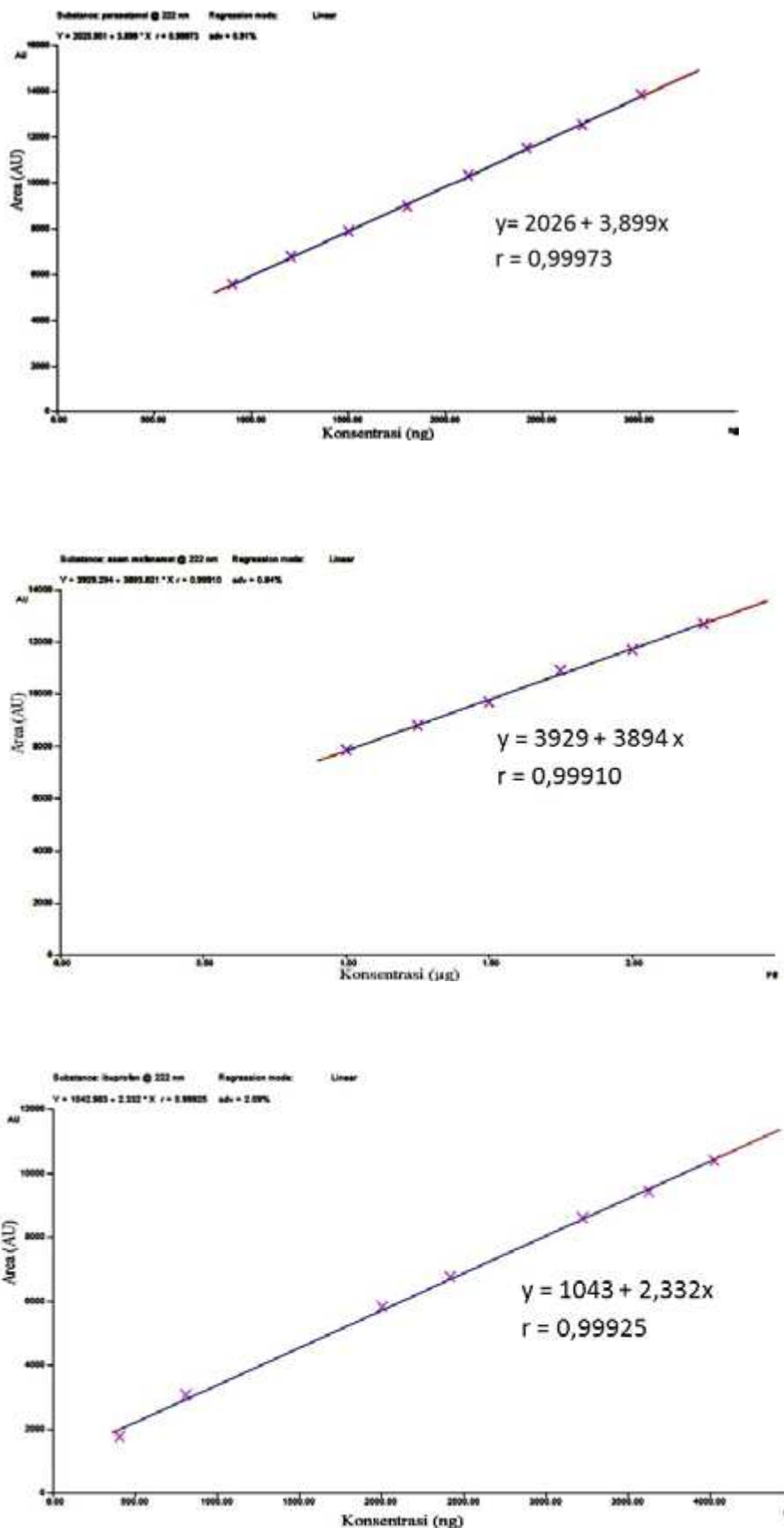
Keterangan: (a) parasetamol, (b) asam mefenamat, dan (c) ibuprofen



Gambar 3. Kurva serapan bercak ketiga zat uji pada lempeng KLT silika gel GF250 pasca pemisahan dengan fase gerak campuran kloroform-etanol (8:1)



Gambar 4. Kromatogram KLT-densitometri untuk uji selektivitas.



Gambar 5. Kurva kalibrasi parasetamol (atas), asam mefenamat (tengah), dan ibuprofen (bawah).

Tabel 2. Uji Repeatabilitas dan Presisi intermediate

Zat Uji	Konsentrasi per bercak (ng/bercak)	Kategori konsentrasi	Repeatabilitas*)	Presisi Intermediate*)
Parasetamol	1200	rendah	2,85	2,96
	1500	sedang	0,90	1,48
	1800	tinggi	1,77	1,86
Asam Mefenamat	1000	rendah	2,06	2,17
	1250	sedang	1,39	1,45
	1500	tinggi	1,33	1,52
Ibuprofen	400	rendah	4,58	4,64
	800	sedang	4,03	4,12
	2000	tinggi	1,91	1,96

*) Standar deviasi relatif (% RSD, n=6)

Tabel 3. Uji perolehan kembali (Akurasi)

Zat Uji	Konsentrasi adisi (ng/bercak)	Kategori konsentrasi	Perolehan kembali (%)*)
Parasetamol	1200	rendah	99,46 ± 2,85
	1500	sedang	99,46 ± 0,90
	1800	tinggi	99,42 ± 1,77
Asam Mefenamat	1000	rendah	99,11 ± 2,06
	1250	sedang	99,47 ± 1,39
	1500	tinggi	101,62 ± 1,33
Ibuprofen	400	rendah	99,50 ± 4,58
	800	sedang	100,83 ± 4,03
	2000	tinggi	100,77 ± 1,91

*) n = 6

Tabel 4. Hasil analisis kualitatif dan kuantitatif sampel

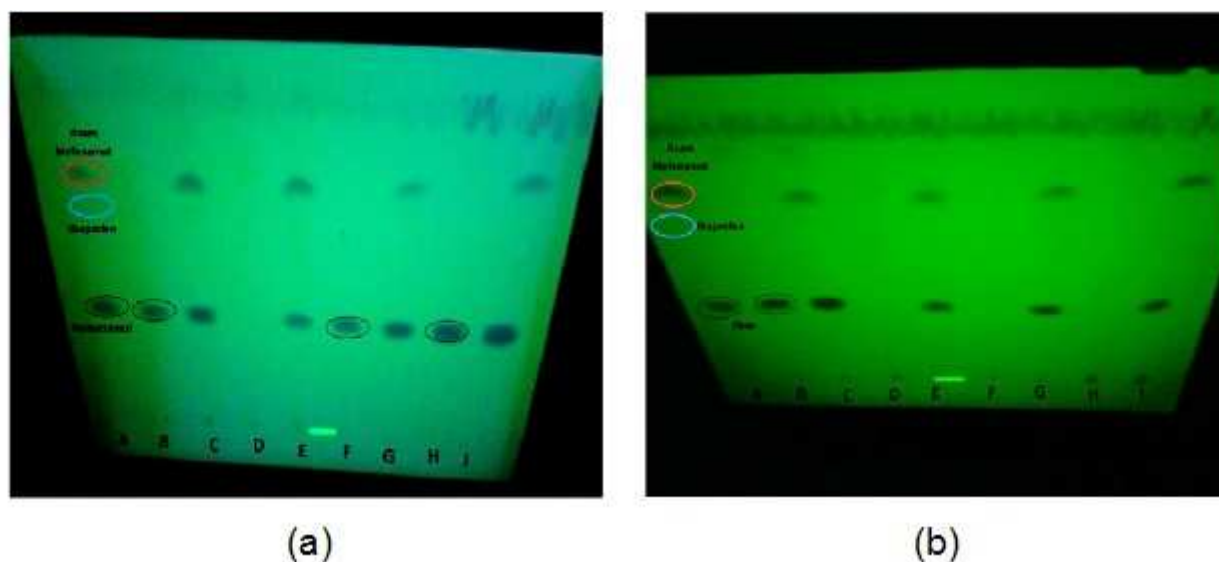
Nama Sampel	Hasil Uji Kadar (%)*)	Kandungan (mg) *)	Perolehan kembali (%)*)
DM	(+) Parasetamol	314,65	4,49
AN	(-)	-	-
WT	(+) Parasetamol	503,16	7,19
AS	(+) Parasetamol	505,55**)	28,09**)
XL	(+) Parasetamol	337,12	4,82
NM	(-)	-	-
JJ	(-)	-	-
SM	(-)	-	-

Keterangan:

*) per dosis tunggal pemakaian = 1 unit kemasan (7 gram).

***) dosis pemakaian = 2 tablet.

(-) negatif parasetamol, asam mefenamat dan ibuprofen.



Gambar 6. Kromatogram KLT: (a) sampel 1-4 dan (b) sampel 5-8. Keterangan: Lempeng KLT silika gel GF250, fase gerak kloroform-etanol (8:1), detektor lampu UV 254 nm. Pada (a): A: baku campuran, B: sampel DM, C: sampel DM adisi, D: sampel AN, E: sampel AN adisi, F: sampel WT, G: sampel WT adisi, H: sampel AS, dan I: sampel AS adisi. Pada (b): A: baku campuran, B: sampel XL, C: sampel XL adisi, D: sampel NM, E: sampel NM adisi, F: sampel JJ, G: sampel GG adisi, H: sampel SM, dan I: sampel SM adisi.

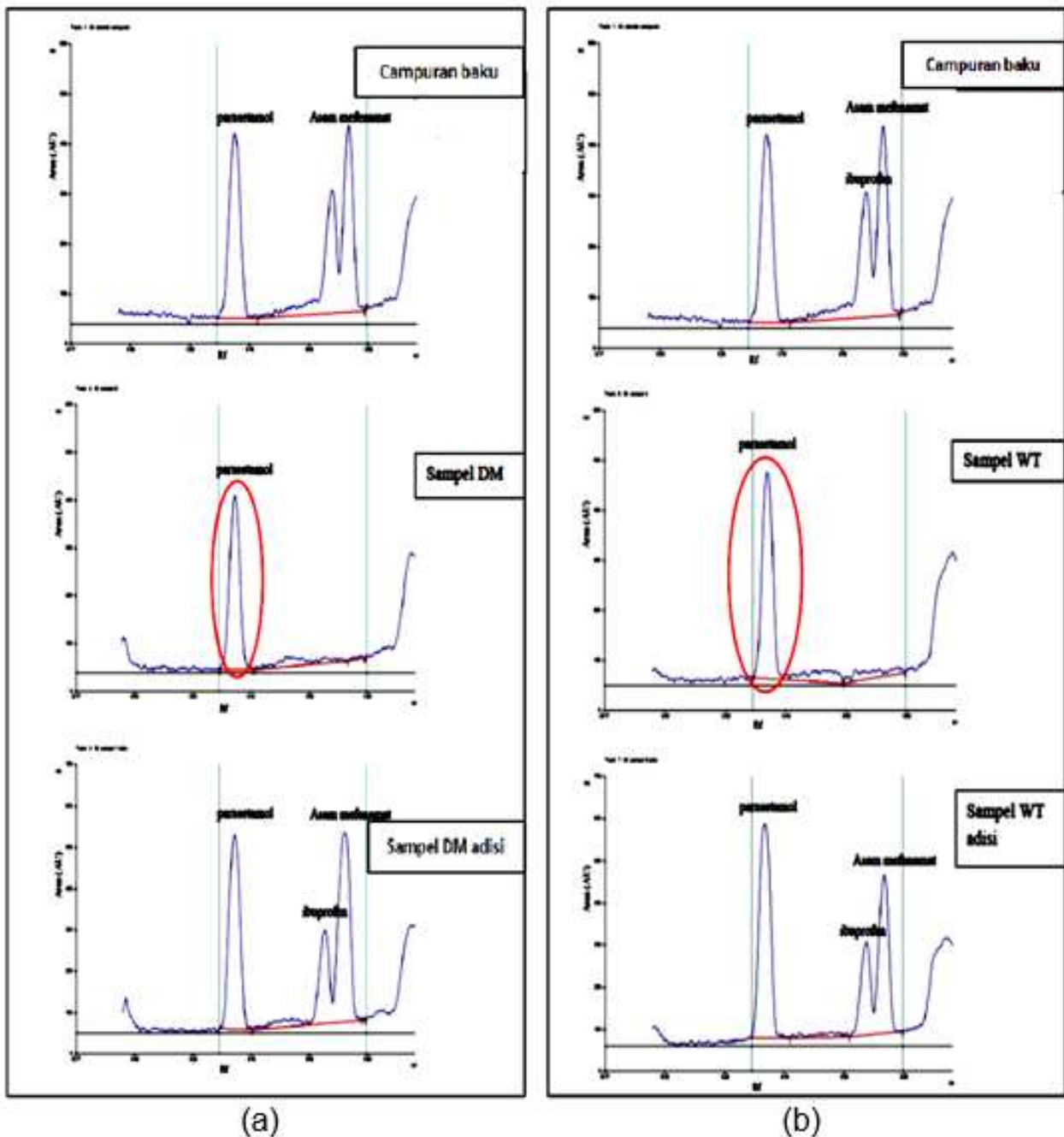
KLT-densitometri untuk analisis secara serentak ketiga senyawa tersebut telah dikembangkan oleh Capres [9]. Namun metode tersebut masih perlu dikembangkan lebih lanjut untuk memperoleh metode yang lebih murah dan sederhana.

Pada penelitian ini digunakan fase diam lempeng aluminium-KLT silika gel 60F254 dan fase gerak campuran dua pelarut. Sistem kromatografi tersebut lebih murah dan lebih sederhana dibandingkan sistem yang telah dipublikasikan. Hasil pemisahan KLT menggunakan berbagai fase gerak menunjukkan bahwa campuran kloroform-etanol (8:1) paling memenuhi kriteria yang dibutuhkan untuk pemisahan ketiga senyawa uji, oleh karena itu campuran pelarut tersebut dipilih sebagai fase gerak pada penelitian ini. Fase gerak ini menghasilkan R_f parasetamol 0,31, asam mefenamat 0,75 dan ibuprofen 0,68 (Gambar 2, Tabel 1).

Kurva serapan bercak ketiga zat uji dapat dilihat pada Gambar 3. Untuk memperoleh luas puncak terbesar untuk ketiga zat uji maka digunakan λ 222 nm (λ maksimum dari ibuprofen) sebagai λ analisis.

Metode menunjukkan spesifisitas/selektivitas yang baik, karena tidak terdapat puncak kromatogram dari komponen sampel blanko jamu pada R_f puncak parasetamol, asam mefenamat dan ibuprofen (Gambar 4). Hasil analisis regresi linier pada kurva kalibrasi hubungan konsentrasi zat-zat uji dengan luas puncak kromatogram, pada rentang konsentrasi 900-3000 ng/bercak untuk parasetamol, 1000-2500 ng/bercak untuk asam mefenamat dan 400-4000 ng/bercak untuk ibuprofen, menunjukkan linieritas yang baik ($> 0,999$ [11]), dengan koefisien korelasi (r) berturut-turut untuk parasetamol, asam mefenamat dan ibuprofen = 0,9997, 0,9991, dan 0,9992 (Gambar 5). LOD yang diperoleh berturut-turut 65,72, 66,90 dan 48,06 ng/bercak untuk parasetamol, asam mefenamat, dan ibuprofen, sedangkan LOQ yang diperoleh berturut-turut 219,00, 223,20 dan 155,40 ng/bercak untuk parasetamol, asam mefenamat dan ibuprofen. Namun demikian nilai LOQ ini tidak sejalan dengan hasil uji presisi.

Presisi metode KLT-densitometri yang dikembangkan dinyatakan dalam persen relatif standar deviasi (% RSD). Metode analisis

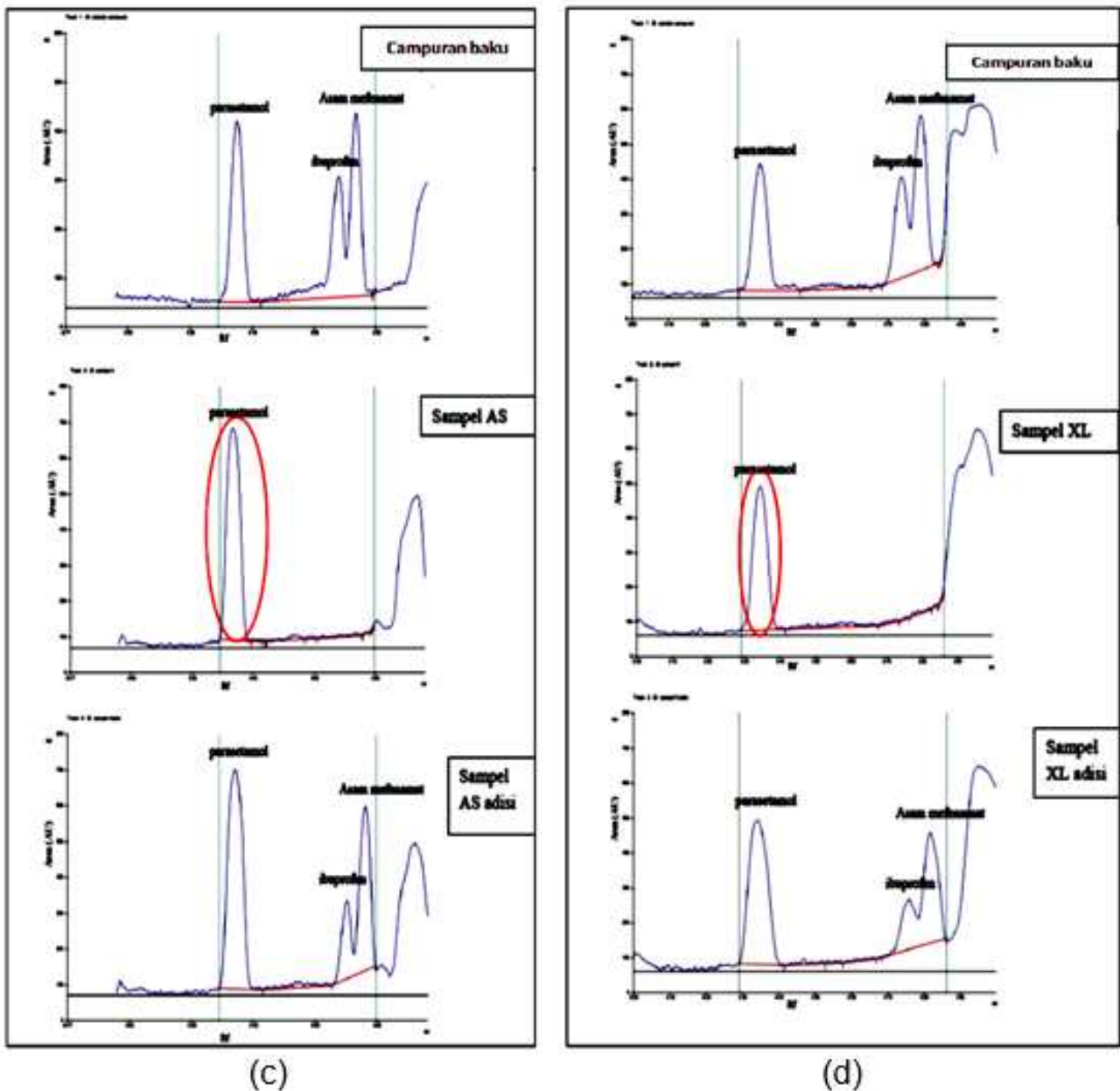


Gambar 7 a-b. Kromatogram KLT-densitometri: (a) campuran baku, sampel DM dan sampel DM adisi, (b) campuran baku, sampel WT dan sampel WT adisi.

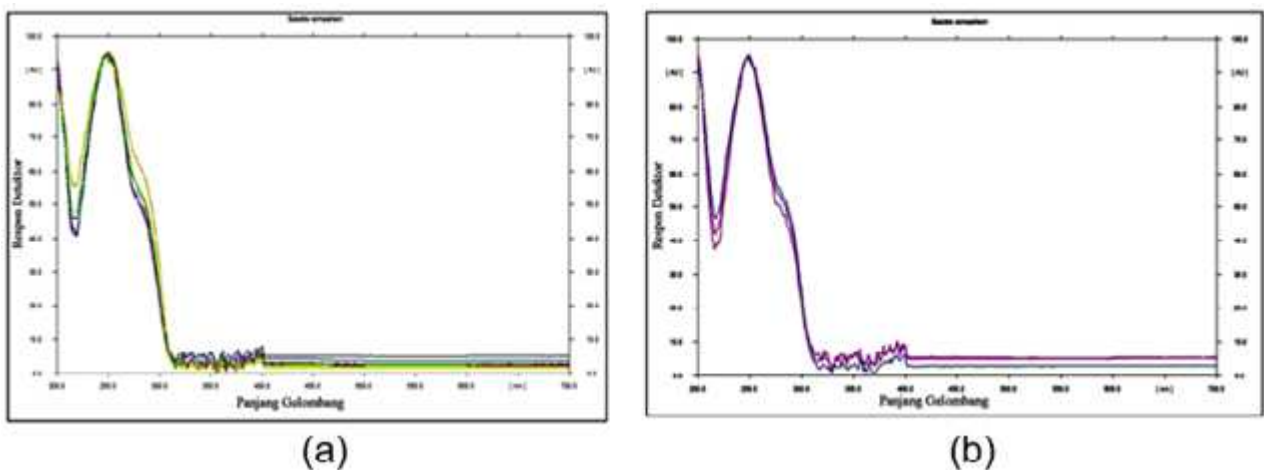
menunjukkan presisi yang tinggi (% RSD < 2,0) [10] pada konsentrasi 1500 dan 1800 ng/bercak untuk analisis parasetamol, 1250 dan 1500 ng/bercak untuk asam mefenamat, dan 2000 ng/bercak untuk ibuprofen (Tabel 2). Akurasi metode ditentukan dengan uji perolehan kembali. Rata-rata persen perolehan kembali dari adisi sampel blanko pada tiga konsentrasi yang berbeda berturut-turut untuk parasetamol, asam mefenamat dan ibuprofen

diperoleh pada rentang 99,42-99,46%, 99,11-101,62% dan 99,50-100,83% (Tabel 3).

Analisis kualitatif 8 sampel jamu “pegel linu” didapatkan 4 (empat) sampel diantaranya mengandung parasetamol (Tabel 4, dan Gambar 6, 7a-d, dan 8). Pada sampel-sampel tersebut terdapat bercak dengan nilai Rf dan kurva serapan yang sesuai dengan baku parasetamol. Hasil analisis kuantitatif parasetamol pada sampel (Tabel 4)



Gambar 7 c-d. Kromatogram KLT-densitometri: (c) campuran baku, sampel AS dan sampel AS adisi, (d) campuran baku, sampel XL dan sampel XL adisi.



Gambar 8. Kurva serapan bercak baku parasetamol dan bercak dari sampel pada Rf yang sama. (a) sampel DM, WT, XL, (b) sampel AS.

menunjukkan bahwa kandungan parasetamol pada sampel setara dengan satu dosis tunggal pemakaian parasetamol untuk dewasa (325 – 650 mg) [5].

KESIMPULAN

Pengembangan metode KLT-densitometri untuk analisis parasetamol, asam mefenamat dan ibuprofen telah dilakukan. Metode menunjukkan spesifisitas, linieritas dan akurasi yang baik. Presisi terpenuhi pada konsentrasi 1500 ng/bercak untuk parasetamol, 1250 ng/bercak untuk asam mefenamat, dan 2000 ng/bercak untuk ibuprofen. Metode ini lebih sederhana dan murah, sehingga diharapkan bermanfaat bagi laboratorium atau instansi yang bertugas melindungi kesehatan masyarakat untuk melaksanakan survei keamanan jamu pegel linu di wilayahnya masing-masing.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Indonesia yang telah menyediakan fasilitas yang diperlukan untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan RI (2012). Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 006/2012 tentang Industri dan Usaha Obat Tradisional. Kementerian Kesehatan RI, Jakarta.
2. Sari, L. O. (2006). Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Kemanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. III, No.1, pp. 01-07. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI.
3. Mikail, B. (2011). Health. Obat Tradisional Berbahaya. *Kompas.com*. <http://health.kompas.com/read/2011/10/05/16131040/21>. Obat Tradisional Ini Berbahaya. Diunduh tgl 30 Juli 2012.
4. Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) RI. (2014). Hasil Pengawasan Obat Tradisional Mengandung Bahan Kimia Obat. <http://www.pom.go.id/new/index.php/view/pers/242/Hasil-Pengawasan--Obat-Tradisional-Mengandung-Bahan-Kimia-Obat.html>
5. Lemke, T.L., Williams, D.A., Roche, V.F. and Zito, S.W. (2013). *Foye's Principles of Medicinal Chemistry*, 7th Ed. Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore.
6. Pharmaceutical Society of Australia. (2014). Obat bebas (OTC) di Apotek-panduan, saran dan terapi. The Pharmaceutical Society of Australia, Canberra.
7. Haneef, J.; Shaharyar, M., Husain, A., Rashid, M., Mishra, R., Siddiqueb, N.A. and Pal, M. (2013). Analytical methods for the detection of undeclared synthetic drugs in traditional herbal medicines as adulterants. *Drug Test. Analysis*, 5, 607:613
8. Adamovics, JA. and Eschbach, JC. (1997), Planar Chromatography, in *Chromatographic Analysis of Pharmaceuticals*, (Edited by Adamovics, JA), Marcel Dekker, New York.
9. Capres, S. (2005). Development of methods for analysis of synthetic adulterants in herbal medicines by HPTLC. Diploma Thesis. Institut für Pharmazeutische Biologie, Departement Pharmazeutische Wissenschaften, Philosophisch-Naturwissenschaftliche Fakultät, Universität Basel
10. ICH guidelines (2005). International Conference on Harmonisation Guidelines on Validation of Analytical Procedure: Text and Methodology Q2 (R1), Geneva, 1-8.
11. Food and Drug Administration. (1994). Validation of chromatographic methods. Reviewer guidance. September 7, 2012. <http://www.fda.gov/downloads/>