

LAPORAN PENELITIAN

Judul Penelitian :

**IDENTIFIKASI PARASETAMOL DAN KAFEIN SECARA SIMULTAN
DENGAN METODE KLT-DENSITOMETRI PADA JAMU SEDIAAN
SERBUK**



umsurabaya
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA

**Fakultas
Ilmu Kesehatan**

Oleh :

Apt Etik Wahyuningsih., S.Farm., M.Farm

Andas Firdausi Nuzul (20211666051)

Ziadatul Baroroh (20211666056)

**FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA**

Jl. Sutorejo No. 59 Surabaya 60113

Telp. 031-3811966

<http://www.um-surabaya.ac.id>

Tahun 2021-2022

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : Identifikasi Parasetamol dan Kafein Pada Jamu Sediaan Serbuk Dengan Metode KLT-Densitometri

Skema : Rp. 10.900.000,00

Jumlah Dana :

Ketua Peneliti : Apt. Etik Wahyuningsih, S.Farm., M.Farm

a. Nama Lengkap : 0721118007

b. NIDN : -

c. Jabatan Fungsional : S1 Farmasi

d. Program Studi : 085895750057

e. No Hp : etikwahyuningsih@um-surabaya.ac.id

f. Alamat Email :

Anggota Mahasiswa (1) : Andas Firdausi Nuzul

a. Nama Lengkap : 20211666051

b. NIM : Universitas Muhammadiyah Surabaya

c. Perguruan Tinggi :

Anggota Mahasiswa (2) : Ziadatul Baroroh

a. Nama Lengkap : 20211666056

b. NIM : Universitas Muhammadiyah Surabaya


c. Perguruan Tinggi :

Mengetahui,
Dekan FIK UMSurabaya



Dr. Nur Mukarromah, SKM., M.Kes
NIDN. 0713067202

Surabaya, 17 April 2022
Ketua Peneliti



Apt. Etik Wahyuningsih, S.Farm., M.Farm
NIDN. 0721118007

Menyetujui
Ketua LPPM UMSurabaya



Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep
NIDN. 0730016501

RINGKASAN

Parasetamol dan kafein merupakan senyawa kimia yang ditambahkan secara ilegal kedalam obat tradisional yang memiliki khasiat sebagai antirematik. Identifikasi parasetamol dan kafein telah dilakukan pada lima sampel jamu sediaan serbuk yang diperoleh di depot jamu area Surabaya. Objective: pada penelitian ini bertujuan untuk identifikasi parasetamol dan kafein secara simultan dengan menggunakan metode KLT-Densitometri yang umum ditemukan pada jamu sediaan serbuk. Methods: Metode analisis dengan menggunakan Kromatografi lapis tipis dengan silica gel GF254 dan kloroform: etil asetat (1:1) sebagai fase diam dan fase gerak. Noda pada plate KLT kemudian dideteksi dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm kemudian dianalisis pada Camaf TLC scanner. Hasil: eluen kloroform-etil asetat (1:1) memisahkan parasetamol dan kafein dari matrik sampel dengan resolusi yang baik (≥ 1). The retardation factor (Rf) parasetamol dan kafein didapatkan 0.42 and 0.26 dengan limit deteksi 0.0125 $\mu\text{g}/\text{spot}$ and 0.05 $\mu\text{g}/\text{spot}$. Kesimpulan Metode analisis memenuhi kriteria validasi untuk identifikasi parasetamol dan kafein pada jamu sediaan serbuk. Aplikasi lima sampel yang dilakukan menunjukkan tidak terdeteksi adanya parasetamol dan kafein.

Keyword: Simultan, Identifikasi, Parasetamol, Kafein, Jamu sediaan serbuk, KLT-Densitometri.

DAFTAR ISI

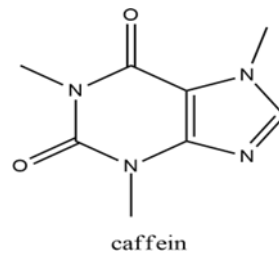
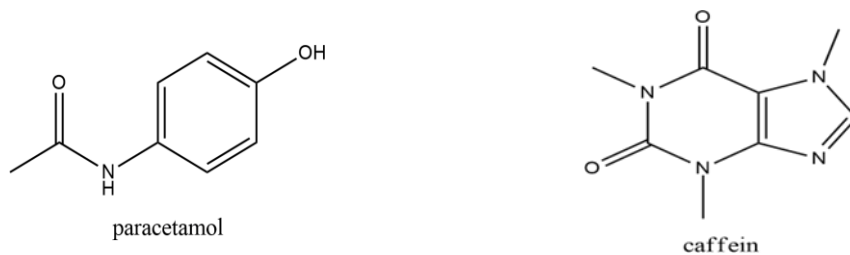
	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	
RINGKASAN.....	1
BAB 1. PENDAHULUAN.....	2
1.1 Latar Belakang.....	2
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Khusus.....	2
1.4 Urgensi/Keutamaan Penelitian.....	2
1.5 Target Penelitian.....	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Tinjauan Tentang Bahan kimia obat.....	3
2.3 Tinjauan Tentang parasetamol dan kafein.....	3
2.3 <i>Road map</i> Penelitian.....	4
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	5
3.1 Desain Penelitian.....	5
3.2 Alat dan Bahan.....	6
3.4 Validasi metode Analisis.....	6
3.5 Identifikasi parasetamol dan kafein pada sampel.....	6
BAB 4 HASIL PENELITIAN.....	9
DAFTAR PUSTAKA.....	19

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Parasetamol dan kafein adalah senyawa kimia yang sering ditambahkan pada obat tradisional salah satunya pada jamu sediaan serbuk. Struktur kimia dari parasetamol dan kafein dengan rumus kimia N-(4-Hydroxyphenyl) acetamide and 1,3,7-trimethylpurine-2,6-dione¹ dapat dilihat pada gambar 1. Komponen tersebut dilaporkan sebagai dua dari senyawa kimia yang memiliki khasiat sebagai antirematik. Kedua senyawa tersebut merupakan senyawa yang berbahaya bagi kesehatan.



Gambar 1. Struktur kimia Parasetamol

Berdasarkan struktur kimianya, parasetamol dan kafein merupakan senyawa yang memiliki gugus kromofor sehingga dapat terdeteksi oleh UV. Penelitian terkait parasetamol dan kafein pada jamu sediaan serbuk antara lain spektrofotometri spectrophotometry⁵, FT-IR¹⁴, KCKT^{2,3,5,9}, HPLC^{4,5}, LC/MS/MS⁵. Metode analisis yang mudah, simpel dan murah sangat diperlukan. Metode KLT Densitometri merupakan metode yang secara umum digunakan untuk identifikasi jamu tradisional. Kromatografi Lapis Tipis merupakan metode pilihan yang simpel, cepat dan efisien dibandingkan dengan metode KCKT dan LC/MS/MS^{5,6}.

Beberapa metode untuk identifikasi parasetamol dan kafein pada sediaan farmasi secara umum menggunakan metode KLT Densitometri dan merupakan metode pilihan pada obat tradisional yang telah banyak dilaporkan^{7,8,10,11}. Pada jamu sediaan serbuk mengandung matrik yang sangat kompleks, sehingga perbedaan matrik sampel dapat menyebabkan interferensi dengan analit selama analisis, Berdasarkan latarbelakang tersebut diatas, dilakukan penelitian optimasi kondisi KLT untuk identifikasi

secara simultan parasetamol dan kafein pada jamu yang didapatkan pada depot jamu di area Surabaya.

1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang penelitian, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

- Apakah metode hasil optimasi memenuhi syarat validasi (linieritas, spesifisitas, LOD/LOQ)
- Apakah metode tersebut dapat diaplikasikan pada sampel jamu sediaan serbuk

1.3. Tujuan Khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah:

- Memperoleh kondisi optimum yang dapat digunakan identifikasi parasetamol dan kafein dengan metode KLT-Densitometri yang memenuhi syarat validasi metode.
- Menghasilkan publikasi ilmiah terkait Identifikasi Parasetamol dan kafein secara simultan dengan metode KLT-Densitometri yang memenuhi persyaratan validasi metode.

1.4. Urgensi/ Keutamaan Penelitian

Di bidang kefarmasian berguna untuk menjamin bahwa produk khususnya obat tradisional bebas dari bahan berbahaya diperlukan metode analisis yang tepat. Adanya *public warning* dari BPOM tahun 2021 tentang bahan berbahaya pada produk obat tradisional terutama pada jamu sediaan serbuk yang dilaporkan teridentifikasi adanya parasetamol menuntut laboratorium untuk memilih metode yang selektif dan sensitif.. Dengan dilakukannya pengembangan metode analisis yang simpel, murah, selektif dan sensitif untuk identifikasi parasetamol dan kafein dapat diaplikasikan pada produk obat tradisional yang berada dipasaran .

1.5. Target Penelitian

Hasil yang ditargetkan dari penelitian ini adalah:

- Didapatkan metode analisis yang simpel, selektif dan sensitif untuk analisis parasetamol dan kafein pada jamu sediaan serbuk dan diaplikasikan pada produk obat tradisional yang beredar di pasaran
- Menghasilkan publikasi ilmiah Identifikasi parasetamol dan kafein pada jamu sediaan serbuk dengan metode KLT-Densitometri.

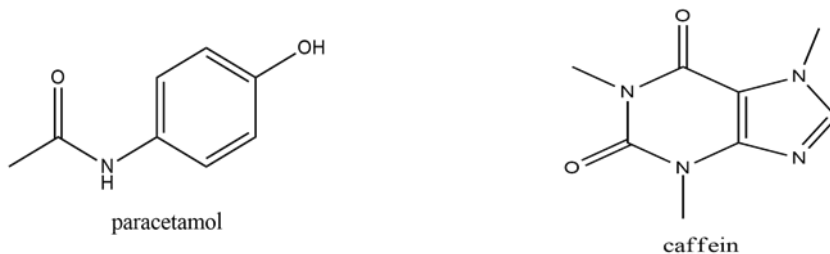
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Bahan Kimia Obat

Bahan kimia obat adalah senyawa obat yang ditambahkan pada obat tradisional dengan tujuan untuk mendapatkan efek terapi yang cepat⁷. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan No. 007 Tahun 2012 tentang registrasi obat tradisional, bahwa jamu yang beredar di masyarakat harus memenuhi berbagai persyaratan, salah satunya yaitu tidak boleh mengandung bahan-bahan kimia obat (BKO), narkotika atau psikotropika dan bahan lain yang berdasarkan pertimbangan kesehatan atau berdasarkan penelitian dapat membahayakan kesehatan.

2.2 Tinjauan tentang Parasetamol dan Kafein

Parasetamol atau acetaminophen, N-asetil 4-amonofenol (C₈H₉NO₂) dengan BM 151,16, mengandung tidak kurang dari 98,0 % dan tidak lebih dari 110,0 % (C₈H₉NO₂). Pemerian hablur atau serbuk hablur putih tidak berbau dan memiliki rasa pahit. Larut dalam 70 bagian air, 70 bagian etanol 96%, 13 bagian aseton, 9 bagian polietilenglikol dan larut dalam alkali hidroksida. Khasiat dan kegunaannya adalah sebagai analgesik antipiretik. Sedangkan kafein Kafein merupakan alkaloid yang termasuk golongan methylxanthine dengan rumus kimia C₈H₁₀N₈O₂ dan struktur kimianya 1,3,7-trimethylxantine. Kafein memiliki berat molekul 194.19, bubuknya berwarna putih.



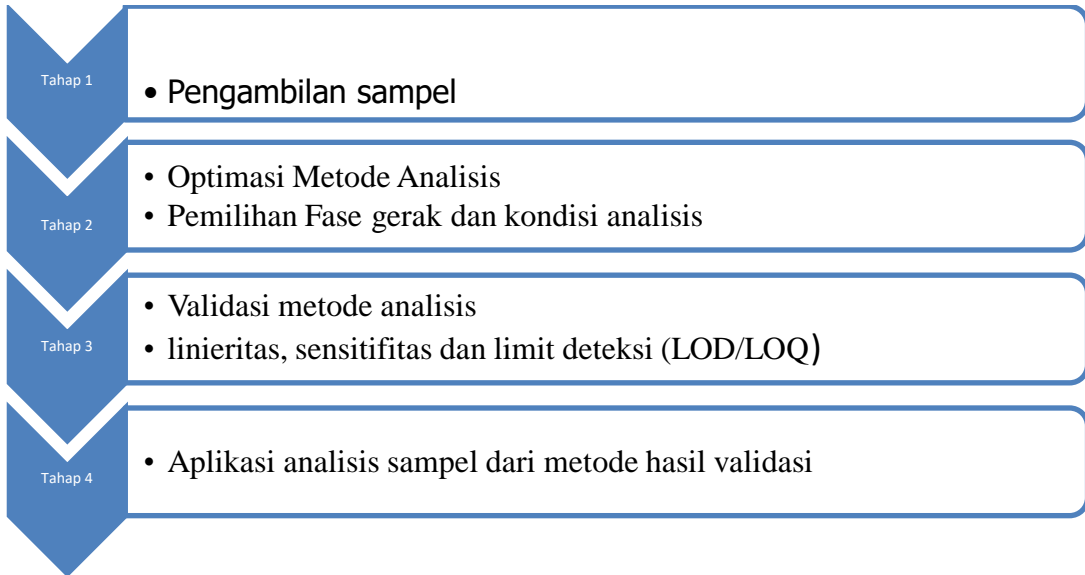
Gambar 2 Struktur kimia parasetamol dan kafein

2.6 Peta Rencana (*Road map*) Penelitian

2016	2017	2018-2020	2021
<i>Public Warning</i> : Bahan kimia obat pada jamu (BPOM 2016)	<i>Public Warning</i> : Bahan kimia obat (BPOM 2017)	<i>- Public Warning</i> : Bahan kimia obat (BPOM 2017)	Optimasi Metode analisis metode KLT- Densitometri
			Validasi Metode analisis
			Aplikasi identifikasi parasetamol dan kafein

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian



Gambar 5. Skema Desain Penelitian

3.2. Alat dan Bahan :

3.2.1. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

Standar of paracetamol and kafein (BPFI/Indonesia), metanol (Merck), kloroform (Merck), etil asetat (Merck), TLC silica gel GF₂₅₄ plate (Merck). Sampel jamu sediaan serbuk yang diambil dari depot jamu area Surabaya.

3.2.2. Alat

Plate KLT silika gel 60 F254, Timbangan analitik (O Haous Pioner), Bejana kromatografi 20 x 20 x 5 cm³ (CAMAG), Densitometer (CAMAG TLC Scanner 4), Lampu UV CAMAG, sonikator, oven, water bath, pipa kapiler 2 ul dan alat gelas yang umum digunakan untuk analisis.

3.2.3 Metode penelitian

Kondisi kromatografi

Standard dan sampel yang telah ditotolkan pada plate KLT GF254

sebesar 2 μ l dengan pelarut sampel adalah metanol dan fase gerak kloroform: etil asetat (1:1). Sebagai fase gerak untuk memisahkan parasetamol dan kafein kemudian diekstraksi pada Camag *twin through chamber* yang mengandung eluen yang telah dijenuhkan. Spot noda kemudian discan pada Cammag Scanner pada panjang gelombang 254 nm.

Preparasi Baku Pembanding

Ditimbang sebesar 50,0 mg parasetamol dan 5,0 mg kafein dalam labu ukur 100 ml menggunakan pelarut metanol sehingga diperoleh kadar 500 ppm parasetamol dan 50 ppm kafein.

Validasi Metode

Selektivitas

Uji selektivitas dilakukan dengan menentukan kapasitas pemisahan parasetamol dan kafein pada matrik sampel, dengan menambahkan standar kedalam matrik sampel. Kromatogram kemudian ditentukan puritinya. *Acceptance criterion* selektivitas adalah (R_s) is ≥ 1 .

Uji Limit Deteksi

Pada uji limit deteksi dibuat larutan standar parasetamol dan kafein pada konsentrasi tertentu dan mengamati konsentrasi terkecil yang masih dapat dideteksi pada alat.

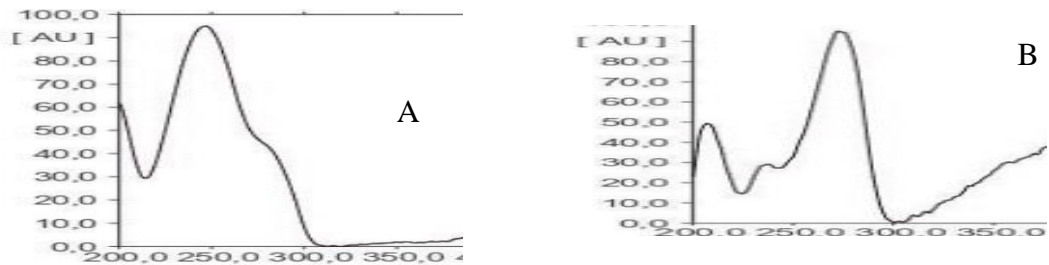
Aplikasi pada sampel

Identifikasi analit pada sampel dilakukan pada kondisi optimum. 5 sampel jamu sediaan serbuk yang diperoleh pada depot jamu area Surabaya digunakan sebagai model sampel. Sampel sebesar 1,0 gram sampel diekstraksi dengan pelarut metanol. 2 μ L yang mengandung setara dengan 1% analit di totolkan pada plate KLT.

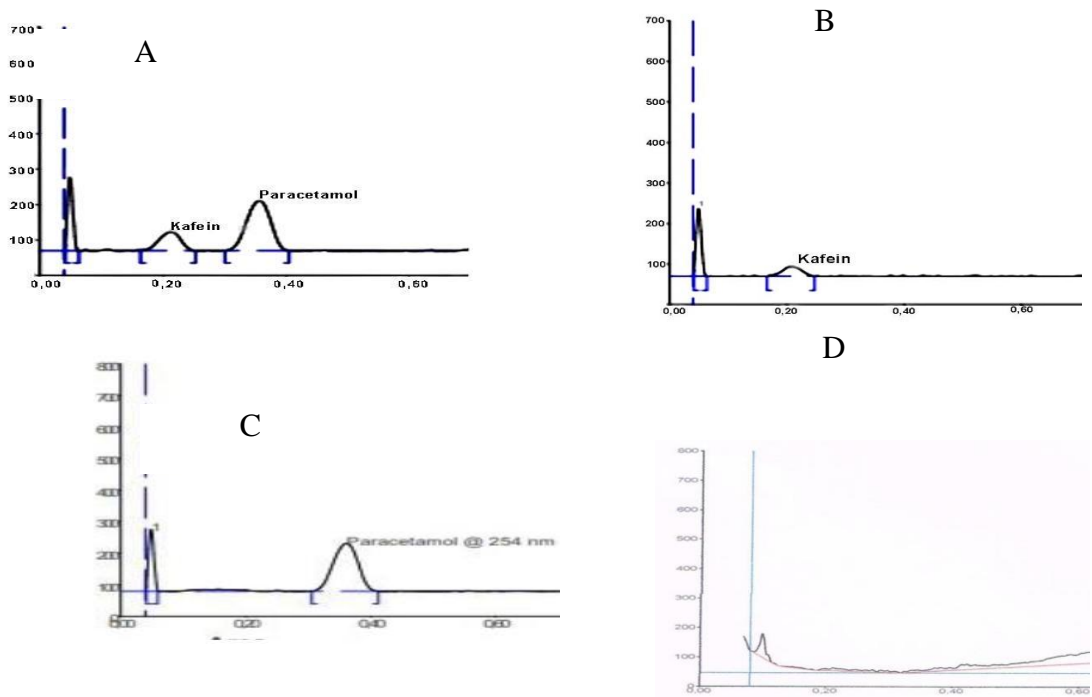
BAB IV
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Selektifitas

Hasil kromatogram parasetamol dan kafein dapat dilihat pada gambar 4.1



Gambar 4.1 Spectrum parasetamol (A) and kafein (B) at 200-350 nm scanning



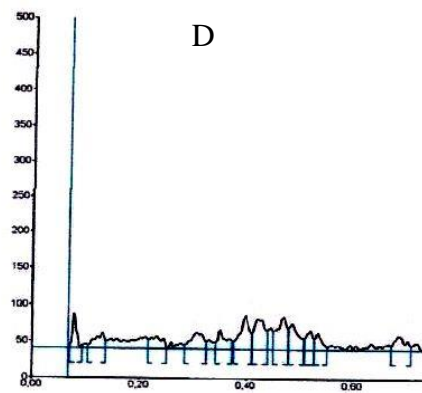
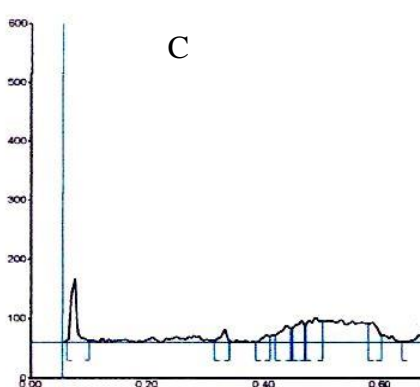
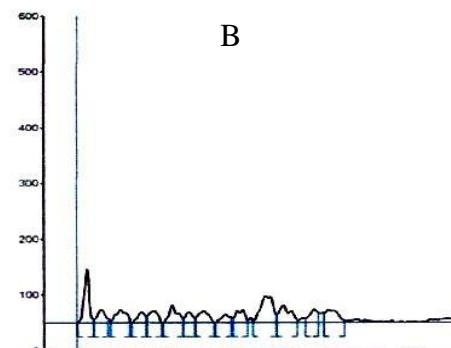
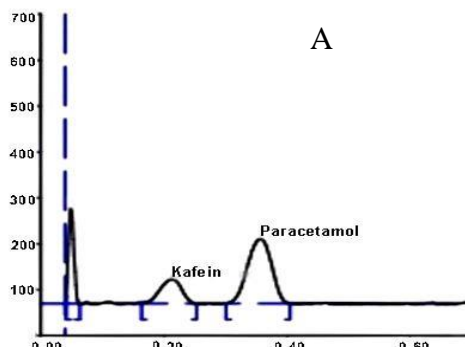
Gambar 4.2 Kromatogram paracetamol (A) and kafein (B) standards, sampel adisi standards (C), pelarut (chloroform-ethyl acetate) (D) pada kondisi optimum

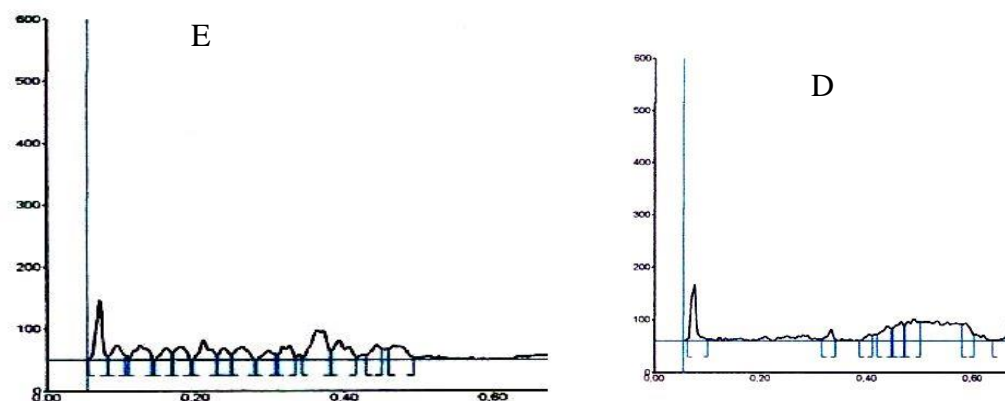
Panjang gelombang terpilih berdasarkan pada hasil scan prektra parasetamol dan kafein yang dapat dilihat pada gambar 4.2 pada absorban maksimal pada 254 nm. Dari gambar tersebut menunjukkan bahwa tidak terjadi interferensi analit dengan matrik sampel yang ditunjukkan dengan nilai resolusi yang baik dari parasetamol, kafein dan komponen lain dari sampel. Dari data tersebut memenuhi syarat validasi dengan nilai *acceptance criterion dari Rs value* adalah >1 . The Rs values dari standar paracetamol dan kafein adalah 1,23. Tailing factor met the criterion $> 0,9$ for symmetric peak (Table-4.1).

Tabel 4.1 Hasil uji selektifitas parasetamol dan kafein

analit	Konsentrasi	Start Height	Retardation Factor (Rf)	Tailing Factor
Parasetamol	500 μ l	2.3	0,42	1,33
Kafein	500 μ l	0.9	0,26	1

Identifikasi parasetamol dan kafein pada 5 sampel pada jamu sediaan serbuk yang diperoleh pada depot jamu area Surabaya menunjukkan bahwa tidak ada sampel yang mengandung parasetamol dan kafein yang mengandung bahan kimia obat yang dapat dilihat pada gambar 4.3. Beberapa kemungkinan dapat disebabkan karena jumlah analit yang lebih kecil dari limit deteksi sehingga tidak terdeteksi.





Gambar 4.3. Chromatogram of Parasetamol and kafein standard (A), sample A, Sample B, sample C, sample D and sample E on silica gel F₂₅₄ menggunakan chloroform-ethyl acetate 1:1 sebagai fase diam dan fase gerak.

4.5 Kesimpulan

Hasil Validasi metode analisis Rhodamin B yang telah divalidasi memenuhi persyaratan validasi dapat diaplikasikan pada sampel jamu sediaan serbuk dan dapat diterapkan pada sediaan yang beredar.

DAFTAR PUSTAKA

1. Merck Index (citad, 2022, September 22) on <https://www.rsc.org/merck-index>
2. Mamat P, Dian H, Lukman H, Seniwati, Muammar F.2021. Determination of Acetaminophen in Jamu Pegel Linu by High Performance Liquid Chromatography. *Pharm Prep*.1 (1): 12-15.
3. Laksmi N, Anoop A. 2016. Determination of paracetamol and caffeine using Reverse Phase Liquid (RP-LC) Chromatographic Technique. *Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 3(4): 5-10.
4. Mahesh A, Mueen A.K, Bandar E, Aldhubaid, Sree H. 2011. High Performance Thin Layer Chromatography: A Powerful analytical Technique in pharmaceutical Drug Delivery. *PharmaceuticalMethod*. 2(2): 71-76
5. Sari A.S, Sestry M, Ridho A. 2021. Analytical of Medical Chemical Contained on Jamu: A Review. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*. 9(2):33-46.
6. Hayun., Baitha P., Manggadani., Nurul amalina. 2017. Determination of sibutramine adulterated in herbal slimming products using TLC Densitometric Method. *Indonesian Journal Pharm*, 27(1).pp 15-21
7. Gitawati R. 2013. Analysis of Adulterated Jamu Pegel Linu Obtained From the Market in Jakarta. *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*; 16(3):269-274.
8. Harimurti S, Ulandari S, Widada H, & lailly D.V. 2020. Identifikasi Parasetamol dan Asam Mefenamat pada Jamu Pegel Linu dan Asam Urat yang Beredar di Daerah Istimewa Yogyakarta. *JPSCR*; 5(2):179-188.
9. Wisnuwardhani H.A, Rusdi B, & Yuliawati K.M. 2018. Method Validation for Simultaneous Quantitative Analysis of Acetaminophen and Dexamethasone in Jamu Pegel Linu Using Hplc Method. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*; 10(11):2693-2696
10. Alina P., Marika B and malgorzata D. 2013. Validation thin layer chromatography for the determination acetaminophen in tablet and comparison with a pharmacopeial method. *Hindawi publishing corporation*, v 2013, article ID 545703
11. International Conference on Harmonisation.ICH. Q2 (R2). Validation of analytical procedures: Methodology. ICH. 2005. [https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/Q2\(R1\).pdf](https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/Q2(R1).pdf) on September 2022.
12. Hye Suk Lee, Chang Kyun Jeong, Sung Jin Choi, Sang Beom Kim, Mi Hyun Lee, Geon Il Ko and Dong Hwan Sohn: Simultaneous determination of paracetamol, caffeine and propyphenazone in ternary mixtures by micellar electro kinetic capillary chromatography, . *Pharm. Biomed. Anal*, 2000, 2: 775-781.
13. Prawez Alam, Faiyaz Shakeel, Abuzer Ali, Mohammed H. Alqarni, Ahmed I. Foudah, Tariq M. Aljarba, Faisal K. Alkholifi, Sultan Alshehri, Mohammed M. Ghoneim, and Amena Ali. 2022. Simultaneous determination of caffeine and paracetamol in commercial formulas using Greener Normal-Phase and Reversed-Phase HPTLC Methods: A contrast of validation parameters. *Molecules*. 27(2): 405.
14. Wahyuningsih E, Dessidianti R. 2022. Aplikasi FT-IR ATR Spektroskopi untuk Identifikasi Parasetamol pada Jamu Sediaan Serbuk. *Cammelia*; 1 (2) : 56-60.

LAMPIRAN

1. DUKUNGAN TERHADAP PELAKSANAAN PENELITIAN :

- 1.1. Dukungan aktif yang sedang berjalan : Sudah optimasi metode analisis
- 1.2. Dukungan yang sedang dalam pertimbangan : telah dilakukan kontak dengan pihak UNAIR Universitas Airlangga untuk sewa instrument analisis
- 1.3. Proposal yang sedang direncanakan atau yang sedang dalam taraf persiapan : optimasi kondisi analisis, validasi metode dan aplikasi identifikasi senyawa pada sampel

2. SARANA PENELITIAN :

- 2.1 Pelaksanaan penelitian dilakukan di laboratorium Farmasi UM Surabaya, dan Laborarium Farmasi Universitas Airlangga.
- 2.2. Peralatan Utama yang digunakan pada penelitian ini :

No	Laboratorium	Jenis Alat	Keterangan
1	Farmasi Um Surabaya	- Proses preparasi pendukung	Semua dalam keadaan baik dan siap untuk digunakan
2	Farmasi UNAIR	- TLC-Densitometri	Semua dalam keadaan baik dan siap untuk digunakan

Lampiran

Biodata Ketua Peneliti

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap	Apt. Etik Wahyuningsih.,M.Farm
2	Jenis Kelamin	Perempuan
3	Program Studi	S1 Farmasi
4	NIP/NIDN	012.05.1.1980.21.288 / 071118007
5	Tempat dan Tanggal Lahir	Sidoarjo, 21 Nopember 1980
6	Alamat Email	Etikwahyuningsih@um-surabaya.ac.id
7	Nomor Telepon/HP	085895750057

B. Riwayat Pendidikan

No	Jenjang	Bidang Ilmu	Universitas	Tahun Lulus
1	Sarjana (S1)	Farmasi	Universitas Airlangga	2004
2	Profesi Apoteker	Farmasi	Universitas Airlangga	2005
3	Magister (S2)	Ilmu Farmasi	Universitas Airlangga	2020
4	Doktor (S3)	-		

C. Rekam Jejak Tri Dharma PT (dalam 5 tahun terakhir)

Pendidikan/Pengajaran

No	Nama Mata Kuliah	Wajib/Pilihan	SKS
1	Kimia Dasar	Wajib	3
2	Kimia Analisis	Wajib	5
3	Analisis Farmasi	Wajib	4
4	Kimia Organik	Wajib	2
5	Kimia Medisinal	Wajib	3

Riset

No	Judul Riset	Penyandang Dana	Tahun
1	Optimasi Metode KCKT-ELSD dengan Pemisahan HILIC untuk Penetapan Kadar Glukosamin Hidroklorida pada Suplemen Kesehatan	PT Interbat	2020

Pengabdian kepada Masyarakat

No	Judul Pengabdian kepada Masyarakat	Penyandang Dana	Tahun
1	-	-	-
2	-	-	-

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan Hibah Penelitian Internal.

LUARAN PENELITIAN



Berkala Ilmiah Kimia Farmasi (BIKF)
FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA

E-ISSN: 2808-1048



June 27, 2023

To:

Annisa Kartika Sari

Universitas Muhammadiyah Surabaya

Subject:

Letter of Acceptance in Berkalah Ilmiah Farmasi (BIKF)

Dear Annisa Kartika Sari

We are delighted to inform you that based on result the discussion of managing editors and reviewers, your manuscript entitled:

*Identification of Paracetamol and Caffeine in Jamu Powders
Simultaneously Using TLC-Densitometry*

Has been accepted for publication on Berkalah Ilmiah Farmasi Vol. 10 No. 1 June 2023. We congratulate and thank you for including best work on Berkalah Ilmiah Farmasi (BIKF)

Regards, Editpr-in Chief

Drs.,apt. Marcellino Rudianto. PhD

Departemen Ilmu Kefarmasian

Fakultas Farmasi

Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

IDENTIFICATION OF PARACETAMOL AND CAFFEINE IN JAMU POWDERS SIMULTANEOUSLY USING TLC-DENSITOMETRY

Etik Wahyuningsih¹, Isnaeni^{1,2*}, Asri Darmawati²,

¹Study Program of Pharmacy, Faculty of Health Science, Universitas Muhammadiyah, Surabaya, Indonesia

e-mail: isnaeni@um-surabaya.ac.id

ABSTRACT

Background: Paracetamol and caffeine are medical chemical substances that suspected to be illegally added to the traditional herbs claimed as rheumatics drug. Identification of paracetamol and caffeine has been done on five samples of jamu powder obtained from the Depot Jamu in Surabaya. **Objective:** This study aimed to simultaneous identify of paracetamol and caffeine commonly found in traditional medicine one of which jamu powder using thin layer chromatography densitometry (TLC-Densitometry). **Methods:** Thin layer chromatography was performed by silica gel GF₂₅₄ and chloroform-ethyl acetate (1:1) as the stationary and mobile phase respectively. The spots on TLC plate were detected using UV lamp at 254 nm and the areas were measured by Camag TLC scanner. **Results:** The eluent of chloroform-ethyl acetate (1:1) separated paracetamol and caffeine from other substances with good resolution (≥ 1). The retardation factor (R_f) of paracetamol and caffeine were 0.42 and 0.26 with the detection limit of 0.0125 $\mu\text{g/spot}$ and 0.05 $\mu\text{g/spot}$ respectively. **Conclusion:** The method met acceptance of validation criteria for simultaneous identification of paracetamol and caffeine in jamu powder. None of the five samples were detected to contain paracetamol and caffeine.

Keyword: Simultaneously, Identification, Paracetamol. Caffeine. Jamu Powder. TLC-Densitometry.

INTRODUCTION

Paracetamol and caffeine are medical chemical that are suspected to be illegally added to traditional medicine; one of which jamu powder. The chemical name of paracetamol and caffeine are N-(4-Hydroxyphenyl) acetamide and 1,3,7-trimethylpurine-2,6-dione¹ respectively (**Figure 1**). These compounds have been reported as two of several medical chemicals added for rheumatic indication. The addition of chemical substances to traditional medicines is prohibit because it endangers the health of consumers or patient.

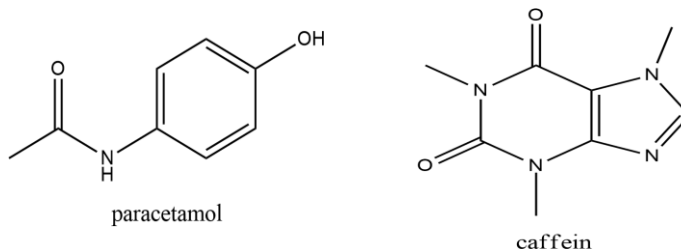


FIGURE 1- The chemical structure of paracetamol and caffeine

Based on the chemical structure, paracetamol and caffeine contain the UV chromophore, so that these analytes can be detected by UV. Previous analysis methods of paracetamol in herbs powder were reported including spectrophotometry⁵, FT-IR¹⁴, high performance liquid chromatography (HPLC)^{2,3,5,9}, high performance thin layer chromatography (HPTC)^{4,5}, LC/MS/MS⁵. However, a simple, fast, selective and inexpensive method for routine analysis are still preferred. Thin Layer chromatography (TLC) widely used for analysis of medical chemical in herbs medicine. The TLC allows for greater flexibility in choice of chromatographic system. The method is simpler, more rapid and lower cost than HPLC and LC/MS/MS^{5,6}.

Several methods on identification for paracetamol and caffeine in the pharmaceutical product generally using thin layer chromatography densitometry (TLC-Densitometry) have been reported^{7,8,10,11}. However, very few studies on the analytical method for identification and quantification simultaneous paracetamol and caffeine on the traditional herbs powder. The jamu powder contained complex matrix, so that the presence of different matrix can be interference with analyte during analysis. Based on the background, this research purposed to optimize the TLC conditions for simultaneous identification of paracetamol and caffeine on jamu powder obtained from the jamu depot in Surabaya.

EXPERIMENTAL

Chemicals

Standards of paracetamol and caffeine (BPFI/Indonesia), methanol (Merck), chloroform (Merck), ethyl acetate (Merck), TLC silica gel GF₂₅₄ plate (Merck). The samples of jamu powder were obtained from the jamu depot in Surabaya.

Chromatographic Condition

Chromatography was performed by spotting standards and sample on silica gel GF₂₅₄ TLC plate (Merck) as stationary phase using 2.0 µl capillaries glass, methanol as solvents and chloroform-ethyl acetate (1:1) as mobile phase to separate paracetamol and caffeine from other substances in the jamu samples. A Camag twin through chamber contain eluents was saturated and the spots move to reach distance of 8 mm. Densitometric scanning for all measurements was performed on CAMAG TLC scanner and win CATS in the absorbance mode at 254 nm.

Preparation of Standard Solution

Standards stock solution of paracetamol and caffeine with concentration of 500 µg/ml and 50 µg/ml were obtained by dissolving 50.0 mg paracetamol and 5.0 mg caffeine standards (BPFI) in 100.0 ml methanol (Merck).

Selectivity

The selectivity test was performed by determining the separation capacity between the paracetamol, caffeine and the matrix, by adding the standards to the sample before chromatographic analysis was done. The chromatogram was measured to determine the characteristic and purity of sample jamu powders. Acceptance criterion of the selectivity value (R_s) is ≥ 1 .

Limit of detection

Limit of detection (LOD) were determined by establishing the minimum concentration at which the paracetamol and caffeine could be reliably detected.

Sample determination

The identification of analytes in the sample was conducted using optimum condition. The jamu powder obtained from Surabaya (5 samples) were used as model. Approximately 1.0 gram of samples were extraction with methanol. Two microliters of the solution containing equivalent to 1% sample were spotted on the chromatographic plate.

RESULTS AND DISCUSSION

Selectivity

The spectrum of paracetamol and caffeine on the chromatogram were depicted in figure 2. of solvents and matrix addition standard did not show the same peaks as the R_f peaks of paracetamol and caffeine (figure 3). Therefore peaks of solvents and the matrix did not interference during analysis. The standards chromatogram and the sample showed the R_s value as selectivity parameter with minimum R_s of 1.0. Basedon the parameter R_f and R_s (Table-3), the R_f value generally meet the requirement¹¹.

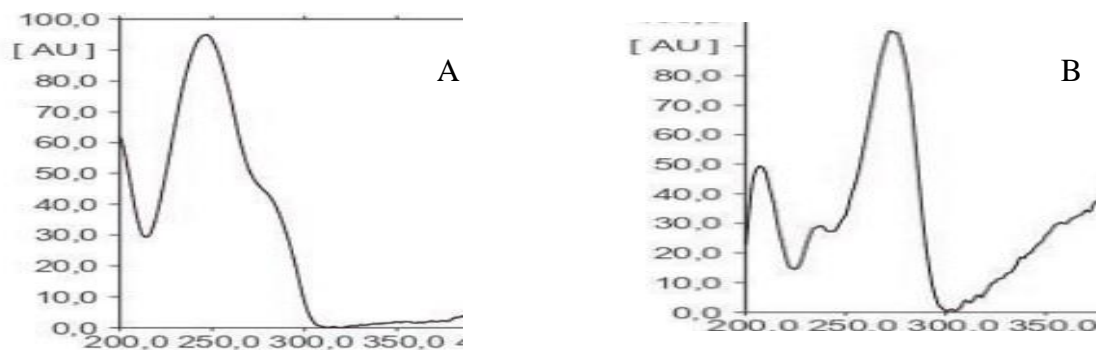


FIGURE-2 Spectrum of paracetamol (A) and caffeine (B) at 200-350 nm scanning

The selected wavelength was performed based on the results of the scanning spectra of paracetamol and caffeine (figure 2) on which the maximum absorption was reached at 254 nm with an absorption value of 95.0 absorbance units (UA).

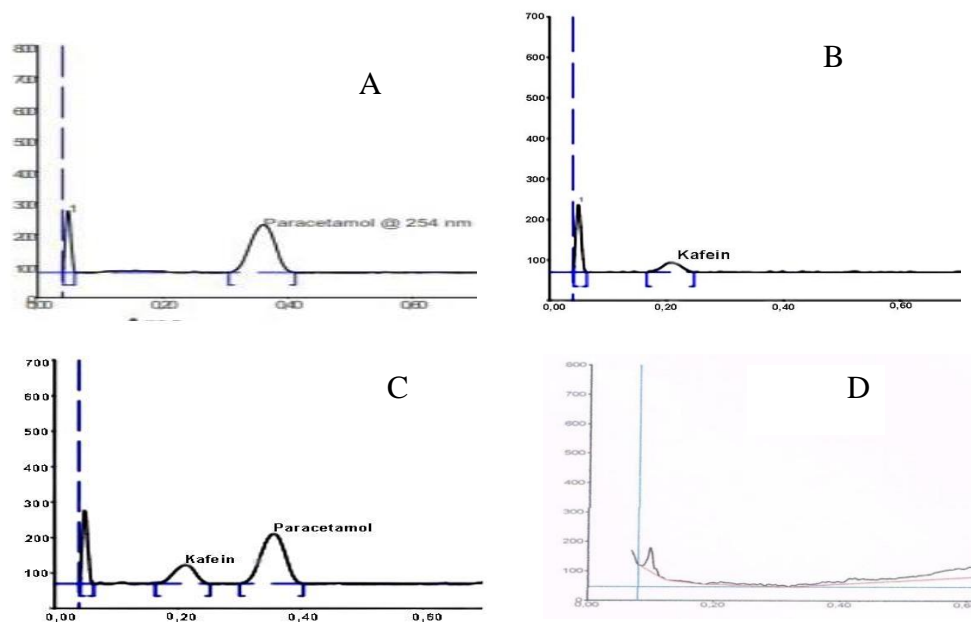


FIGURE 3- Chromatogram of paracetamol (A) and caffeine (B) standards, sample addition standards (C), solvents (chloroform-ethyl acetate) (D) using optimum condition

Good resolution (R_s) of paracetamol, caffeine, and other components in the samples was depicted in the figure 3. The acceptance criterion of R_s value is >1 . The R_s values for paracetamol and caffeine standard was 1,23. Tailing factor met the criterion $> 0,9$ for symmetric peak (Table-1).

TABLE-1 Selectivity of Paracetamol and Caffeine

Chemical name	Concentration	Start Height	Retardation Factor (Rf)	Tailing Factor
Paracetamol	500 μ l	2.3	0.42	1.33
Caffeine	500 μ l	0.9	0.26	1

Limit of detection/LOD

The limit of detection were determined by establishing the minimum concentration at which paracetamol and caffeine could be reliably detected. The LOD of the method were obtained of 0.0125 μ g/spot and 0.05 μ g/spot for paracetamol and caffeine respectively.

Identification of paracetamol and caffeine in Samples

Identification results of paracetamol and caffeine in five samples of jamu powder from Depot Jamu showed that none of the five samples contained both drug chemical substances (Figure 4). Several possibilities can be conveyed that the amount of paracetamol and caffeine added is less than the LOD, so it was not detected. For this reason, the eluent and stationary phase optimization needs to be done. Another possibility was the jamu powders was not really added by the medicinal chemical substances. Furthermore, the results of this study are expected to guide the identification of traditional medicine such as jamu, herbal medicine, simplicial powders, or other dosage forms that are deliberately added by paracetamol with the claim of being an analgesic or anti-inflammatory combined with caffeine from which often found in cold medicine formulas. In the previous study, Alam et al. (2022) developed simultaneous determination of caffeine and paracetamol in commercial formulas using Greener Normal-Phase and Reversed-Phase HPTLC Methods. The chosen eluent was ethyl acetate/ethanol (85:15, v/v), by which discovered that R_f value = 0.40 ± 0.01 and 0.59 ± 0.02 for caffeine and paracetamol respectively. The resolution value was almost similar with chloroform-ethyl acetate (1:1) used as mobile phase in this study. This method could be tried on the commercial traditional medicine, although more expensive technique needed to achieve nanogram limit of detection.

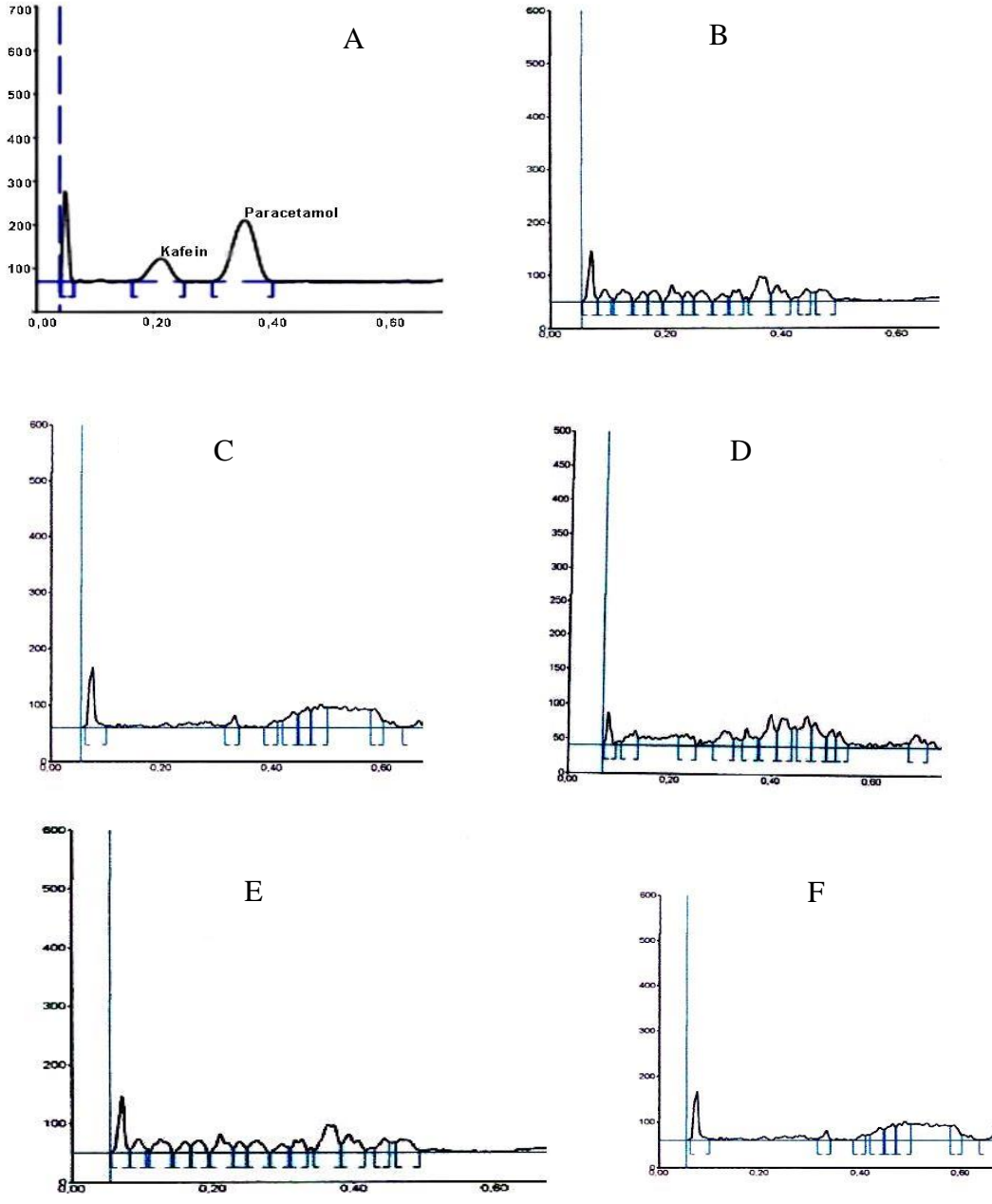


Figure 4. Chromatogram of Paracetamol and Caffeine standard (A), sample A, Sample B, sample C, sample D and sample E on silica gel F₂₅₄ using chloroform-ethyl acetate 1:1 as stationary and mobile phase respectively.

Table 4- Identification paracetamol and caffeine in Jamu Powder using TLC-Densitometry

No	Chemical name	Rf Value	Rs Value	Area
1	Paracetamol	0.42	1.23	4832.2
2	Caffeine	0.26		635.2
3	Jamu A	Negative	Negative	Negative
4	Jamu B	Negative	Negative	Negative
5	Jamu C	Negative	Negative	Negative
6	Jamu D	Negative	Negative	Negative
7	Jamu E	Negative	Negative	Negative

REFERENCE

1. Merck Index (citad, 2022, September 22) on <https://www.rsc.org/merck-index>
2. Mamat P, Dian H, Lukman H, Seniwati, Muammar F.2021. Determination of Acetaminophen in Jamu Pegel Linu by High Performance Liquid Chromatography. *Pharm Prep.1* (1): 12-15.
3. Laksmi N, Anoop A. 2016. Determination of paracetamol and caffeine using Reverse Phase Liquid (RP-LC) Chromatographic Technique. *Journal of Research in Pharmaceutical Sciences.* 3(4): 5-10.
4. Mahesh A, Mueen A.K, Bandar E, Aldhubaid, Sree H. 2011. High Performance Thin Layer Chromatography: A Powerful analytical Technique in pharmaceutical Drug Delivery. *Pharmaceutical Method.* 2(2): 71-76
5. Sari A.S, Sestry M, Ridho A. 2021. Analytical of Medical Chemical Contained on Jamu: A Review. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development.* 9(2):33-46.
6. Hayun., Baitha P., Manggadani., Nurul amalina. 2017. Determination of sibutramine adulterated in herbal slimming products using TLC Densitometric Method. *Indonesian Journal Pharm,* 27(1).pp 15-21
7. Gitawati R. 2013. Analysis of Adulterated Jamu Pegal Linu Obtained From the Market in Jakarta. *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan;* 16(3):269-274.
8. Harimurti S, Ulandari S, Widada H, & lailly D.V. 2020. Identifikasi Parasetamol dan Asam Mefenamat pada Jamu Pegel Linu dan Asam Urat yang Beredar di Daerah Istimewa Yogyakarta. *JPSCR;* 5(2):179-188.
9. Wisnuwardhani H.A, Rusdi B, & Yuliawati K.M. 2018. Method Validation for Simultaneous Quantitative Analysis of Acetaminophen and Dexamethasone in Jamu Pegal Linu Using Hplc Method. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research;* 10(11):2693-2696
10. Alina P., Marika B and malgorzata D. 2013. Validation thin layer chromatography for the determination acetaminophen in tablet and comparison with a pharmacopeial method. *Hindawi publishing corporation,* v 2013, article ID 545703
11. International Conference on Harmonisation.ICH. Q2 (R2). Validation of analytical procedures: Methodology. ICH. 2005. [https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/Q2\(R1\).pdf](https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/Q2(R1).pdf) on September 2022.
12. Hye Suk Lee, Chang Kyun Jeong, Sung Jin Choi, Sang Beom Kim, Mi Hyun Lee, Geon Il Ko and Dong Hwan Sohn: Simultaneous determination of paracetamol, caffeine and propyphenazone in ternary mixtures by micellar electro kinetic capillary chromatography, . *Pharm. Biomed. Anal,* 2000, 2: 775- 781.
13. Prawez Alam, Faiyaz Shakeel, Abuzer Ali, Mohammed H. Alqarni, Ahmed I. Foudah, Tariq M. Aljarba, Faisal K. Alkholifi, Sultan Alshehri, Mohammed M. Ghoneim, and Amena Ali. 2022. Simultaneous determination of caffeine and paracetamol in commercial formulas using Greener Normal-Phase and Reversed-Phase HPTLC Methods: A contrast of validation parameters. *Molecules.* 27(2): 405.
14. Wahyuningsih E, Dessidianti R. 2022. Aplikasi FT-IR ATR Spektroskopi untuk Identifikasi Parasetamol pada Jamu Sediaan Serbuk. *Cammelia;* 1 (2) : 56-60.

LAMPIRAN

NO	URAIAN	JAM KERJA/MINGGU	HONOR/JAM	JUMLAH
1	Ketua	10 Jam x 2	Rp 60.000,00	Rp 120.000,00
2	Anggota	10 Jam x 2	Rp 50.000,00	Rp 100.000,00
3	Pembantu Teknis Lapangan	6 jam x 2	Rp 40.000,00	Rp 80.000,00
Jumlah Biaya				Rp 300.000,00

2 Bahan Habis Pakai dan Peralatan

No	Bahan	Volume	Biaya Satuan	Biaya
1	Kertas HVS 80 gram A4	5 rim	Rp 100.000,00	Rp 500.000,00
2	Tinta Refill Printer HP 360	3 buah	Rp 180.000,00	Rp 540.000,00
3	Alat Tulis	4 Pack	Rp 50.000,00	Rp 200.000,00
4	Materai	41 buah	Rp 10.000,00	Rp 410.000,00
5	Buku Pedoman	20 bh	Rp 35.000,00	Rp 700.000,00
6	Biaya Paket Pulsa	48	Rp 50.000,00	Rp 2.400.000,00
Jumlah Biaya				Rp 4.750.000,00

3 Rincian Pengumpulan dan Pengolahan Data, Laporan, Publikasi Seminar dan Lain-lain

No	Komponen	Volume	Biaya Satuan	Jumlah
1	Pengumpulan dan Pengolahan Data	1	Rp 500.000,00	Rp 500.000,00
2	Penyusunan Laporan	3	Rp 150.000,00	Rp 450.000,00
3	Desiminasi/ Seminar	2	Rp 300.000,00	Rp 600.000,00
4	Publikasi / jurnal	1	Rp 800.000,00	Rp 800.000,00
Jumlah Biaya				Rp 2.350.000,00

4 Perjalanan

Material	Tujuan	Kuantitas	Jumlah
Ketua	a. Pengorganisasian Persiapan Kegiatan	100 kali	Rp 2.500.000,00
	b. Pendampingan Pendidikan dari UMSurabaya		
	c. Evaluasi Kegiatan, dll		
Anggota	a. Pengorganisasian Persiapan Kegiatan	50 kali	Rp 1.000.000,00
	b. Pendampingan Pendidikan dari UMSurabaya		
	c. Evaluasi Kegiatan, dll		
SUB TOTAL			Rp 3.500.000,00

TOTAL KESELURUHAN

**Rp
10.900.000,00**

SURAT TUGAS

Nomor: /TGS/IL3.AU/LPPM/F/2021

Assalaamu'alaikum Wr. Wb.

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep
Jabatan : Kepala LPPM
Unit Kerja : LPPM Universitas Muhammadiyah Surabaya

Dengan ini menugaskan:

No	Nama	NIDN/NIM	Jabatan
1.	Apt. Etik Wahyuningsih, S.Farm., M.Farm	0721118007	Dosen UMSurabaya
4.	Andas Firdausi Nuzul	20211666051	Mahasiswa UMSurabaya
5.	Ziadatul Baroroh	20211666056	Mahasiswa UMSurabaya

Untuk melaksanakan Penelitian kepada masyarakat dengan judul "Identifikasi Parasetamol dan Kafein Pada Jamu Sediaan Serbuk Dengan Metode KLT-Densitometri". Penelitian ini dilaksanakan di Program Studi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UMSurabaya pada tahun akademik 2021-2022.

Demikian surat tugas ini, harap menjadikan periksa dan dapat dilaksanakan dengan penuh tanggung jawab.

Wassalaamu'alaikum Wr. Wb

Surabaya, 23 Agustus 2021

LPPM UMSurabaya



Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep

NIP. 012.05.1.1987.14.113

**Surat Kontrak Penelitian Internal
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENELITIAN KEPADA MASYARAKAT (LPPM)
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA
Nomor: /SP/II.3.AU/LPPM/F/2021**

Pada hari ini **Senin** tanggal **Dua Puluh Tiga** bulan **Agustus** tahun **Dua Ribu Dua Puluh Satu**, kami yang bertandatangan dibawah ini

1. Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep. : Kepala LPPM UMSurabaya yang bertindak atas nama Rektor UMSurabaya dalam surat perjanjian ini disebut sebagai **PIHAK PERTAMA**;
2. Apt. Etik Wahyuningsih, S.Farm., M.Farm : Dosen UM Surabaya, yang selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**.

untuk bersepakat dalam pendanaan dan pelaksanaan program penelitian:

- Judul : Identifikasi Parasetamol dan Kafein Pada Jamu Sediaan Serbuk Dengan Metode KLT-Densitometri
- Anggota : Andas Firdausi Nuzul, Ziadatul Baroroh

dengan ketentuan-ketentuan sebagai berikut:

1. **PIHAK PERTAMA** menyetujui pendanaan dan memberikan tugas kepada **PIHAK KEDUA** untuk melaksanakan program Penelitian perguruan tinggi tahun 2021.
2. **PIHAK KEDUA** menjamin keaslian Penelitian yang diajukan dan tidak pernah mendapatkan pendanaan dari pihak lain sebelumnya.
3. **PIHAK KEDUA** bertanggungjawab secara penuh pada seluruh tahapan pelaksanaan Penelitian dan penggunaan dana hibah serta melaporkannya secara berkala kepada **PIHAK PERTAMA**.
4. **PIHAK KEDUA** berkewajiban memberikan laporan kegiatan Penelitian dari awal sampai akhir pelaksanaan Penelitian kepada LPPM selaku **PIHAK PERTAMA**.
5. **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyelesaikan urusan pajak sesuai kebijakan yang berlaku.
6. **PIHAK PERTAMA** akan mengirimkan dana hibah Penelitian internal sebesar Rp. 10.900.000,- (Sepuluh Juta Sembilan Ratus Ribu Rupiah) ke rekening ketua pelaksana Penelitian.
7. Adapun dokumen yang wajib diberikan oleh **PIHAK KEDUA** sebagai laporan pertanggungjawaban adalah:
 - a. menyerahkan Laporan Hasil Penelitian selambat-lambatnya satu minggu setelah kegiatan usai dilaksanakan
 - b. Memberikan naskah publikasi dan/atau luaran sesuai dengan ketentuan.



8. Jika dikemudian hari terjadi perselisihan yang bersumber dari perjanjian ini, maka **PIHAK PERTAMA** berhak mengambil sikap secara musyawarah.

Surat Kontrak Penelitian ini dibuat rangkap 2 (dua) bermaterai cukup, dan ditanda tangani dengan nilai dan kekuatan yang sama.

Pihak Pertama



Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep
NIP. 012.05.1.1987.14.113

Pihak Kedua

Apt. Etik Wahyuningsih, S.Farm., M.Farm
NIDN. 0721118007



KUITANSI

Sudah terima dari : Bendahara LPPM
Uang sebesar : Sepuluh Juta Sembilan Ratus Ribu Rupiah (dengan huruf)
Untuk pembayaran : Pelaksanaan Penelitian dengan pendanaan Internal

Rp. 10.900.000,00

Surabaya, 23 Agustus 2021

Bendahara LPPM,
Universitas Muhammadiyah Surabaya

Holy Ichda Wahyuni

Ketua Penelitian

Apt. Etik Wahyuningsih, S.Farm., M.Farm