

STUDI POLA FRAGMENATASI JAMU TERKONFIRMASI PARASETAMOL MENGGUNAKAN *LIQUID CHROMATOGRAPHY MASS SPECTROSCOPY (LCMS)*

Muhammad Taupik¹, Endah Nurrohwinta Djuwarno¹, Muhamad Handoyo Sahumena²

¹*Jurusan Farmasi, Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo*

²*Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo*

Jl. Jenderal Sudirman No. 06 Kota Gorontalo 96128, Indonesia

muhtaupik@ung.ac.id

ABSTRAK

Salah satu bahan kimia obat yang sering ditambahkan pada jamu adalah parasetamol karena obat ini merupakan obat analgetik-antipiretik. Sampel terdiri atas 6 sampel jamu dengan merek berbeda. Analisis kualitatif dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan fase gerak n-heksan:etil asetat (1:1) diperoleh tiga sampel yang positif mengandung parasetamol yakni sampel D, E, dan F. Ketiga sampel yang positif mengandung parasetamol dihitung kadarnya dengan metode LCMS. Analisis kuantitatif dengan LCMS (*Liquid Chromatography Mass Spectroscopy*) menggunakan fase terbalik dengan fase gerak asetonitril:air (15%>:85%> v/v) pada laju alir 0.2 mL/menit dan volume injeksi 5 gL. Berdasarkan data kromatogram LCMS diperoleh waktu retensi (Rf) parasetamol 1,038 menit. Rata-rata waktu retensi sampel jamu mendekati waktu retensi parasetamol. Pendekatan selanjutnya berdasarkan pola fragmentasi dari Spektroskopi Massa. Berdasarkan data spektrum massa diperoleh fragmentasi dari parasetamol (152 m/z) membentuk fragmen yakni p-aminofenol (109 m/z) dan asetalaldehid (44 m/z). Ion p-aminofenol, menghasilkan subfragmen aldehid (32 m/z) dan cyclopentadienylidene (81 m/z). Berdasarkan hasil analisis menggunakan metode LCMS diperoleh empat sampel yang mengandung parasetamol, Sampel D. E dan F. Seharusnya ketiga sampel tersebut tidak diperbolehkan diperjualbelikan dan dikonsumsi karena berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan No. 006 Tahun 2012 pasal 33 dan pasal 37 tentang industri dan usaha obat tradisional bahwa obat tradisional dilarang mengandung bahan kimia hasil isolasi atau sintetik yang berkhasiat obat. Meski kandungan parasetamol dalam tergolong sedikit, tetapi menurut Permenkes RINo. 007 tahun 2012 bahwa bahan kimia obat mutlak tidak diperbolehkan terdapat dalam obat tradisional.

Kata kunci: LCMS, KLT, Parasetomol, Jamu, Obat Herbal.

ABSTRACT

One of the chemical drug which is commonly added in Jamu is paracetamol because it is an analgesic-antipyretic drug. The sample consisted of 6 samples of jamu with different brands. Based on the qualitative analysis with TLC method using mobile phase n-hexane : ethyl acetate (1:1) obtained three positive samples containing paracetamol ie samples D, E, and F. All three positive samples which were positively containing paracetamol were calculated the amount by using LCMS method. Based on mass spectrum data, the fragmentation process of paracetamole (152 m / z), forming p-aminophenol (109 m / z) and Acetaldehyde (44 m / z). The ion p-aminophenol producing subfragment 3- aldehyde (32 m/z) and cyclopentadienyldene (81 m/z). Based on the analysis using the LCMS method, four samples containing paracetamole, Samples D.E and F. The three samples should not be allowed to be traded and consumed for violating the Regulation of the Minister of Health of the Republic of Indonesia No 006 of 2012 chapter 33 and chapter 37 on the industry and traditional medicine business that traditional medicine is prohibited to contain chemicals from the isolation or synthetic drug efficacious.

Keywords: *Liquid Chromatography Mass Spectroscopy (LCMS), Thin Layer Chromatography (TLC), Paracetamol, Jamu, Herbal Medicine.*

1. Pendahuluan

Obat tradisional yang saat ini berkembang di masyarakat seperti jamu mendorong pertumbuhan industri jamu baik dalam skala pabrik maupun *home industry*. Perkembangan ini memberikan dampak pada kompetisi perdagangan jamu. Salah satu parameter yang digunakan dalam kompetisi tersebut adalah kualitas jamu yang dapat dilihat dari segi khasiat. Persaingan produsen jamu yang tidak sehat menyebabkan maraknya pelanggaran prosedur dalam pembuatan jamu (Dirgantara, 2013).

Hingga saat ini telah ditemukan banyaknya kandungan jamu tradisional yang telah dicemari bahan kimia obat yang berpotensi membahayakan kesehatan konsumen. Hal ini bertolakbelakang dengan peraturan yang telah ditetapkan oleh pemerintah bahwa jamu adalah salah satu obat tradisional Indonesia yang berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 007 tahun 2012 yakni obat tradisional atau jamu dilarang menggunakan bahan kimia hasil isolasi dari produk alami maupun sintetik berkhasiat obat (Wisnuwardhani et al,2013).

Salah satu produk obat tradisional yang banyak diminati oleh masyarakat yakni jamu (Wijianto dan Yumanda, 2012). Salah satu bahan kimia obat yang sering ditambahkan kedalam jamu adalah paracetamol. Menurut BPOM (2006), meskipun paracetamol terbilang cukup jarang menimbulkan efek samping, namun konsumsi dalam jangka panjang dan overdosis akan menyebabkan timbulnya ruam kulit, kelainan darah, pankreatitis akut, dan kerusakan hati.

Kompleksitas senyawa yang terdapat dalam jamu, dikarenakan bercampurnya senyawa tumbuh-tumbuhan, menyebabkan kerumitan dalam mengidentifikasi jamu yang sudah ditambahkan BKO. Salah satu solusi untuk mengatasi permasalahan proses identifikasi tersebut yaitu menggunakan metode LCMS (*Liquid Chromatography Mass Spectroscopy*). Metode ini, menggabungkan dua metode dalam satu sistem analisis. Proses derivatisasi sampel serta perhitungan kadar dengan menggunakan sistem kromatografi, dalam hal ini menggunakan UPLC (*Ultra Performance Liquid Chromatography*). Untuk mendekripsi senyawanya menggunakan Spektroskopi Massa dengan melihat pola fragmentasi dan berat molekul suatu senyawa. Keunggulan lain dari metode dengan LCMS ini adalah tingkat akurasi dan sensitivitas yang tinggi serta proses penggerjaan dan hasil yang cepat.

2. Metodologi

2.1 Preparasi sampel (ekstraksi)

Sebanyak 6 sampel jamu yang diberik kode

A,B,C,D,E dan F. Masing-masing sampel jamu ditimbang dengan seksama sebanyak 1 gram di masukkan kedalam wadah, lalu di tambahkan metanol 25 mL, kemudian diaduk dengan kecepatan konstan 150 rpm menggunakan 3D shaker. Lalu disaring menggunakan kertas saring *whatman* dan ditampung ekstrak cair dari 6 sampel jamu, kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental jamu pegal linu.

2.2 Pengujian KLT

Ekstrak methanol jamu A dan senyawa pembanding parasetamol ditotolkan pada lempeng KLT dengan ukuran 10 x 12 cm, dimasukkan ke dalam chamber yang berisi eluen n-heksan : etil asetat (1:1). Setelah eluen mencapai batas tanda, diangkat dan dikeringkan. Kemudian kromatogram yang dihasilkan diamati nodanya di bawah sinar UV 254 nm. Dibandingkan noda yang tampak dari senyawa pembanding dengan masing-masing ekstrak jamu dan diperhatikan ada tidaknya kesamaan pada penampakan noda kemudian dihitung nilai Rf-nya.

2.3 Pembuatan larutan baku

Sebanyak 10 mg baku parasetamol ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik. Kemudian dilarutkan dengan menambah 10 ml metanol sehingga didapat kosentrasi 1000 ppm, disaring, filtratnya digunakan sebagai larutan induk. Dari larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm dibuat larutan dengan konsentrasi 10 ppm dengan dipipet kembali sebanyak 50 µL, masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol sampai garis tanda. Larutan standar tersebut disaring dan dimasukkan ke dalam vial LC. Kemudian diinjeksikan ke sistem dengan laju alir fase gerak 200 µL/menit, lalu dilihat waktu retensi (Rf) pada kromatogram dan Spektrum Fragmentasi pada data Spektra Spektroskopi Massa.

2.4 Preparasi sampel

Dilakukan penimbangan sebanyak 10 mg dari sampel D,E dan F menggunakan timbangan analitik. Kemudian dilarutkan dengan menambah 10 ml metanol sehingga didapat kosentrasi 1000 ppm, disaring, filtratnya digunakan sebagai larutan induk. Dari larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm dibuat larutan dengan konsentrasi 10 ppm. Yaitu dengan dipipet kembali sebanyak 50 µL, masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dan dicukupkan volumenya dengan metanol sampai garis tanda. Kemudian dilihat waktu retensi (Rf) pada kromatogram dan Spektrum Fragmentasi pada data Spektra Spektroskopi Massa. Berikut data optimasi kondisi LCMS

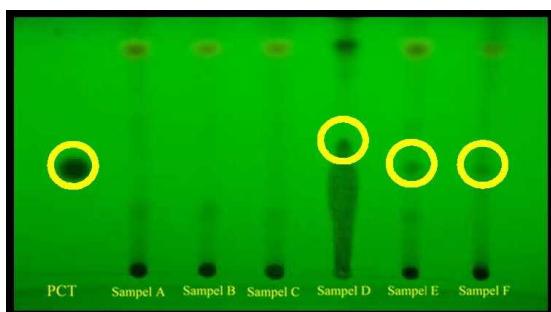
Tabel 1. Data Optmasi Kondisi LCMS**Hasil optimasi kondisi LCMS**

Jenis sistem elusi	Isokratik
Fase gerak	Asetonitril : Air (15:85 v/v)
Jenis kolom	C ₁₈ (<i>Reversed Phase Column</i>)
Laju alir	0.2 mL/menit
Volume injeksi	5 pL
Mode operasi	Ion positif (M ⁺)

4 Hasil dan Pembahasan**4.1 Hasil Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Kromatografi lapis tipis merupakan metode analisis kualitatif yang paling sederhana. Menurut Nazer et al (2014), kromatografi lapis tipis memiliki kelebihan yang nyata dibandingkan dengan kromatografi kertas selain karena nyaman dan cepat, ketajaman pemisahan dan kepekaannya pun lebih tinggi. Adapun fase gerak yang digunakan dalam analisis adalah dua perbandingan pelarut dengan tingkat polaritas yang berbeda yakni n-heksan : etil asetat dengan perbandingan 1:1. Optimasi fase gerak pada KLT dilakukan hingga diperoleh pelarut yang sesuai yang didasarkan pada sistem *trial and error* (Gandjar dan Rohman (2007).

Selanjutnya dilakukan pengembangan/ proses elusii, hasilnya diamati di bawah UV 254 nm. Bercak baku parasetamol dan sampel jamu pegal linu dapat tampak pada UV 254 nm dikarenakan adanya daya interaksi antara sinar UV dengan indikator yang terdapat pada lempeng yakni silika gel F254 (Spangeberg, et.al, 2011). Plat akan berpendar pada sinar lampu UV 254 sedangkan wilayah bercak akan menutupi cahaya yang dikeluarkan oleh plat sehingga bercak dapat ditemukan (Wijiyanto dan Yumanda 2012). Adapun hasil analisis kualitatif menggunakan metode KLT adalah sebagai berikut:



Gambar 1. Hasil Identifikasi KLT Standar Parastamol dan Sampel Jamu dengan panjang gelombang 256 nm.

Fase Gerak n-heksan : etil asetat (1:1)

Berdasarkan hasil elusi baku parasetamol dan keenam sampel jamu pegal linu didapatkan ada tiga sampel yang diduga mengandung parasetamol yakni jamu D, E, dan F. Hal tersebut dikarenakan kesetaraan antara bercak baku parasetamol dan ketiga sampel jamu pegal linu. Berikut data hasil KLT disajikan dalam bentuk tabel (tabel 2).

Tabel 2. Hasil Identifikasi KLT Standar Parastamol dan Sampel Jamu dengan panjang gelombang 256 nm. Fase Gerak n-heksan : etil asetat (1:1)

Sampel Jamu Pegal Linu	Nilai Rf (UV 254 nm)		Kesimpulan	Keterangan
	Sampel	PCT		
Jamu A	-	-	-	Tidak mengandung parasetamol
Jamu B	-	-	-	Tidak mengandung parasetamol
Jamu C	-	0.37	-	Tidak mengandung parasetamol
Jamu D	0.37	-	+	mengandung parasetamol
Jamu E	0.38	-	+	mengandung parasetamol
Jamu F	0.38	-	+	mengandung parasetamol

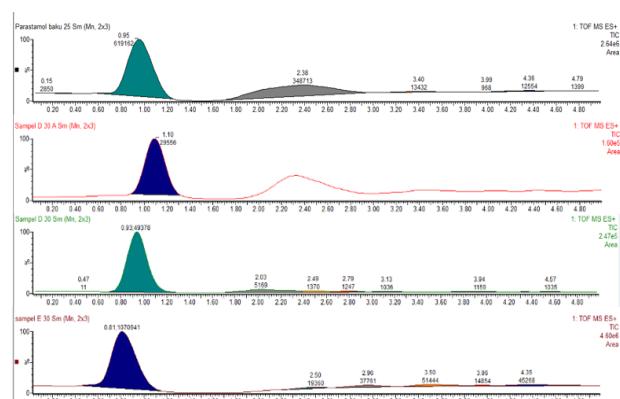
Berdasarkan hasil analisis yang telah dilakukan terhadap 6 jenis sampel jamu, terdapat 3 jenis jamu yang teridentifikasi adanya kandungan parasetamol. Interpretasi data untuk analisis kualitatif ini dilakukan dengan menghitung faktor retardasi (Rf) terhadap intensitas bercak baku pembanding dan keenam sampel yang tampak. Rf diekspresikan sebagai rasio jarak tempuh solut dan jarak tempuh larutan pengelusii pada kertas atau lapis tipis. Dari hasil perhitungan, diperoleh nilai Rf baku pembanding parasetamol adalah 0,37. Nilai Rf tersebut masih dikategorikan Rf yang baik karena masih masuk dalam range nilai Rf yang baik menurut Gandjar dan Rohman (2007) yakni 0,2-0,8. Sampel D, E, dan F menunjukkan nilai Rf yang sama dengan baku pembanding parasetamol yakni masing-masing 0,37; 0,38 dan 0,38. Kesesuaian nilai Rf baku pembanding dengan ketiga sampel jamu pegal tersebut mengindikasikan adanya kandungan BKO parasetamol dalam jamu pegal berdasarkan metode KLT. Namun, untuk mempertegas dugaan terhadap ketiga sampel yang diduga positif mengandung parasetamol, maka dilakukan pengujian terhadap tiga sampel tersebut menggunakan LCMS.

4.2 Hasil Identifikasi menggunakan LCMS

Kondisi LCMS yang digunakan dalam penelitian ini adalah hasil optimasi yang

merupakan tahap awal sebelum instrumen tersebut digunakan untuk menganalisis kuantitatif. Tujuan dilakukannya optimasi terhadap alat LCMS untuk melihat kondisi yang paling cocok dalam menganalisis parasetamol dalam sampel jamu. Berdasarkan hasil optimasi kondisi LCMS (tabel 1), didapatkan kondisi optimal yang paling baik dalam menganalisis parasetamol adalah dengan menggunakan sistem elusi isokratik. Menurut Rubiyanto (2017) pada sistem elusi isokratik, *eluent/so/vent* dengan komposisi konstan dipompakan ke dalam kolom selama analisis berlangsung. Jenis kolom yang digunakan pada penelitian ini adalah jenis kolom C₁₈ dengan komponen silika gel didalamnya dengan fase terbalik (*reversed phase column*). Menurut Gandjar dan Rohman (2007), *oktadesil silika* (ODS atau C₁₈) merupakan fase diam yang paling banyak digunakan karena mampu memisahkan senyawa-senyawa dengan kepolaran yang rendah, sedang, maupun tinggi.

Dalam analisis ini, diperoleh kromatogram baku parasetamol dan masing-masing sampel jamu pegal yang menunjukkan waktu retensi yang relatif sama. Menurut Noegrohati (1994), analisis kualitatif pada LCMS dilakukan dengan cara membandingkan waktu retensi senyawa murni dengan waktu retensi senyawa yang dimaksud dalam sampel. Adapun kromatogram baku parasetamol dan ketiga sampel adalah sebagai berikut:

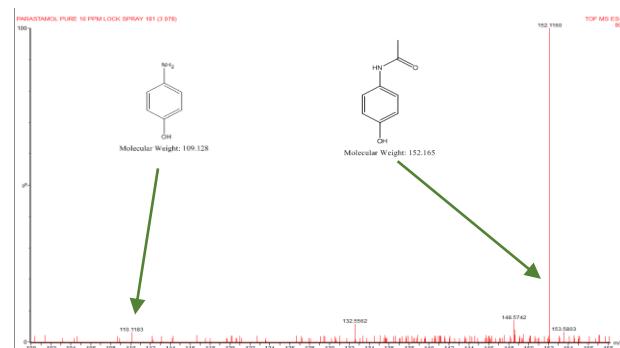


Gambar 2. Perbandingan Kromatogram Parastamol, sampel D, E dan F

Berdasarkan kromatogram pada gambar 2 diatas, perbandingan konsentrasi dan waktu retensi serta *peak area* dari kromatogram baku parasetamol dan ketiga sampel menunjukkan nilai rata-rata waktu retensi parasetamol adalah 1,038 menit. Waktu retensi adalah waktu yang diperlukan analit mulai saat injeksi sampai keluar dari kolom dan sinyalnya secara maksimal ditangkap oleh detektor. Adapun hasil perbandingan konsentrasi dan waktu

retensi kromatogram yang tampak untuk ketiga sampel menunjukkan waktu retensi yang relatif sama dengan parasetamol yang nilainya rata-rata 1 menit. Pergeseran waktu retensi yang terjadi pada saat analisis diakibatkan oleh tekanan yang terjadi di dalam kolom saat proses elusi berlangsung. Data diatas menunjukkan bahwa waktu retensi dari baku parasetamol dan sampel yang dianalisis menunjukkan kesamaan nilai waktu retensinya sehingga diduga jamu tersebut benar-benar mengandung bahan kimia obat parasetamol.

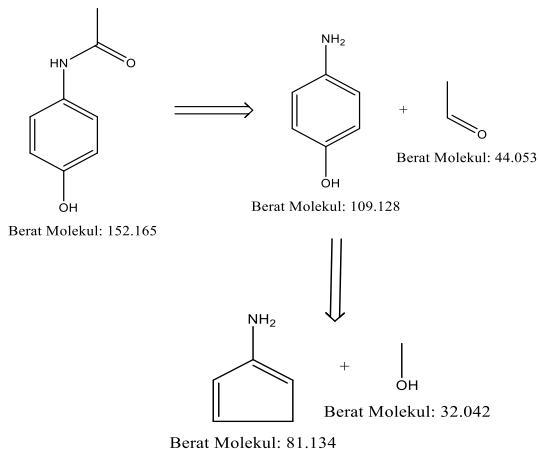
Meskipun waktu retensi telah mengindikasikan senyawa yang diduga ada dalam sampel, namun tetap perlu dilakukan identifikasi senyawa secara spesifik menggunakan spektrometer massa dengan tujuan menganalisis molekul ion dan pola fragmentasi dari senyawa tersebut. Pembuktian bahwa senyawa yang tampak pada kromatogram dari hasil pemisahan. Detektor spektrometer massa akan mengidentifikasi senyawa yang dielusi dari kolom LCMS dengan mengionisasinya terlebih dahulu kemudian mengukur rasio massa (m/z) dan fragmen molekul menjadi potongan-potongan kecil. Adapun hasil deteksi parasetamol dengan spektrometer massa adalah sebagai berikut:



Gambar 3. Spektrum Massa dari Parasetamol dan substituen fragmennya.

Tabel 4. Perbandingan Berat Molekul dan nilai m/z pada instrument LCMS

Sampel	Berat Molekul (g/mol)		Rasio Massa Fragmen (m/z)			
	Sampel	PCT	Sampel		PCT	
Sampel D	152. 73	152.36	81.96	152.73		
Sampel E	152. 17		83.35	152.17	81.81	152.36
Sampel F	152. 13		80.32	152.13		



Gambar 4. Interpretasi Pola Fragmentasi Parasetamol

Data diatas menunjukkan berat molekul dan pola fragmentasi yang terdeteksi. Adapun berat molekul parasetamol yang terdeteksi adalah 152, 109 dan 81 m/z (tersaji pada gambar 3 dan tebel 4). Terdapat dua fragmen yang terbentuk dari parasetamol yakni p-aminofenol (109 m/z) dan asetalaldehid (44 m/z). Terjadi transfer proton pada metil gugus asetalaldehid ke ion nitrogen pada gugus p-aminofenol sehingga terjadi pemutusan ikatan. Akibat proses resonansi aromatis pada Ion p-aminofenol, sehingga menjadi celah pemutusan ikatan, sehingga menghasilkan fragmen aldehyde (32 m/z) dan cyclopentadienylidene (81 m/z) (Belal *et al*, 2009; Niessen, 2017). Berat molekul yang diperoleh mengalami pergeseran nilai berat molekul dari 151.16 g/mol menjadi 152.36 g/mol disebabkan oleh mode operasi yang digunakan pada detektor spektrometer massa yakni mode ion positif (M^+). Menurut Watson (2009), M^+ menandakan ion molekul tersebut membawa satu muatan positif karena telah kehilangan satu elektron, sehingga angka berat molekul yang dihasilkan bertambah satu (1).

Menurut Ardrey (2003), spektrum masa suatu senyawa merupakan identifikasi yang akurat, valid dan tegas karena mampu mengidentifikasi langsung struktur dari senyawa yang tidak diketahui dalam suatu campuran kompleks sekalipun dengan konsentrasi yang sangat kecil. Berdasarkan data spektra masa yang diperoleh, baku parastamol yang dianalisis membentuk pola fragmentasi di rasio 152, 109, 81 m/z. Adapun keempat sampel jamu yang dianalisis juga membentuk pola fragmentasi di rasio 152, 109 m/z (Belal *et al*, 2009; Niessen, 2017). Pola

fragmentasi ini inilah yang menegaskan bahwa ketiga sampel jamu benar benar mengandung parasetamol.

5 Kesimpulan

Metode LCMS ini dapat digunakan untuk menentukan senyawa kompleks yang terdapat didalam jamu dengan pembanding parasetamol. Proses pengujian ini didahului dengan melakukan screening awal dengan menggunakan metode KLT. Metode KLT ini sebagai proses verifikasi awal untuk memilah sampel-sampel yang diduga mengandung parasetamol. Ada dua data yang diperoleh dari LCMS, data kromatogram sebagai proses derivatisasi senyawa serta data spektrum spektroskopii massa yang digunakan untuk mengkonfirmasi keberadaan parasetamol berdasarkan berat molekul dan pola fragmentasi. Berdasarkan hasil analisis parasetamol yang dilakukan dari enam sampel yang dianalisis menggunakan metode *LCMS*, hasil yang diperoleh adalah tiga sampel yang terbukti mengandung bahan kimia obat parasetamol yaitu sampe D, E dan F. Hasil analisis berdasarkan metode LCMS menunjukkan masih adanya bahan kimia obat yang ditemukan terkandung di dalam jamu. Selain dari pada itu, metode LCMS ini dapat digunakan terutama pada sampel yang mengandung senyawa-senyawa kompleks.

Daftar Pustaka

1. Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2006. Bahaya Bahan Kimia Obat (BKO) Yang Dibubuhkan Kedalam Obat Tradisional (Jamu). <http://www.pom.go.id/new/index.php/view/berita/144/BAHAYA-BAHAN-KIMIA-OBAT-BKO-YANG-DIBUBUHKAN-KEDALAM-OBAT-TRADISIONAL--JAMU-.html>. Diakses pada 10 Mei 2020 (19:00).
2. Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2009. *Bahaya Bahan Kimia Obat (BKO) yang Dibubuhkan Kedalam Obat Tradisional (Jamu)*. (<http://www.pom.go.id/new/index.php/view/berita/144/bahaya-bahan-kimia-obat-bko-yang-dibubuhkan-kedalam-obat-tradisional-jamu-.html>) Diakses pada 7 Mei 2017.
3. Belal T., T. Awad, C. R. Clark. 2009. *Determination of Paracetamol and Tramadol Hydrochloride in Pharmaceutical Mixture Using HPLC and GC-MS*. Auburn University: USA.
4. Dirgantara V. S. 2013. *Identifikasi Kualitatif Bahan Analgesik Pada Jamu Menggunakan Prototype Test Strip*. Skripsi. FMIPA: Universitas Jember.
5. Firdaus I. M. dan P. I. Utami. 2009. *Analisis*

- Kualitatif Paracetamol Pada Sediaan Jamu Serbuk Pegal Linu yang Beredar di Purwokerto. *Pharmacy*, Vol. 06 No. 02. Fakultas Farmasi: Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
6. Gandjar I. G. dan A. Rohman. 2007. Kimia Farmasi Analisis. *Pustaka Pelajar*: Yogyakarta.
 7. Nazer, M., H. Aprilia, E. Rismawati. 2014. Pengembangan Metode Analisis Ibuprofen sebagai Bahan Kimia Obat (BKO) di dalam Jamu Pegal Linu dengan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis dan Spektrofotometri UV-Vis. FMIPA: Unisba
 8. Niessen, W.M., 2017. *Interpretation of MS-MS mass spectra of drugs and pesticides*. John Wiley & Sons.
 9. Pratiwi, E. 2010. Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi Dan Reperkolasi Dalam Ekstraksi Senyawa Aktif Andrographolide Dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis Paniculata* (Burm.F.) Nees). Fakultas Teknologi Pertanian: IPB.
 10. Noegrohati, S. 1994. Pengantar Kromatografi. UGM Press: Yogyakarta.
 11. Rubiyanto, D. 2017. *Metode Kromatografi: Prinsip Dasar, Praktikum & Pendekatan Pembelajaran Kromatografi*. Budi Utama: Yogyakarta.
 12. Sunyoto, A. Agustina. 2016. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia Galanga*, Linn) Secara Kromatografi Lapis Tipis. *Cerata Journal of Pharmacy Science*. STIKES Muhammadiyah Klaten.
 13. Watson D., G. 2009. *Analisis Farmasi : Buku Ajar Untuk Mahasiswa Farmasi dan Praktisi Kimia Farmasi Edisi ke 2*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
 14. Wijiyanto B. dan Yumanda. 2012. Analisis Kandungan Paracetamol Pada Jamu Pegal Linu di Pontianak dengan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Spektrofotometri UV-Vis. Fakultas Kedokteran: Universitas Tanjungpura.
 15. Wisnuwardhani H. A., I. Fidrianny, S. Ibrahim. 2013. *Method Development for Simultaneous Analysis of Steroid and Non Steroid Anti Inflammatory Substances in Jamu Pegal Linu Using TLC-Spectrophotodensitometry*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science Vol. 5, Issue 4. Bandung Institute of Technology.

