

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Hasil Analisis Kualitatif Jamu Pegal Linu

a. Reaksi Warna *Salkowski*

Hasil uji/analisis pendahuluan terkait skrining fitokimia dari sampel jamu pegal linu diawali dengan reaksi warna dengan hasil positif steroid ditunjukkan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Analisis Reaksi Warna *Salkowski*

Kode Sampel	Hasil Pengamatan + H ₂ SO ₄	Keterangan Kandungan Steroid
1	Merah kecoklatan	-
2	Kuning keemasan	-
3	Endapan merah	+
4	Endapan merah	+
5	Merah kecoklatan	-
6	Merah kecoklatan	-
7	Merah kecoklatan	-
8	Endapan merah	+
9	Endapan merah	+
10	Endapan merah	+
11	Merah kecoklatan	-
12	Merah kecoklatan	-
13	Merah kecoklatan	-
14	Kuning keemasan	-
15	Merah muda bening	-
16	Bening	-
17	Merah kecoklatan	-
18	Merah kecoklatan	-
19	Endapan merah	+
20	Cincin merah	+
21	Merah kecoklatan	-
22	Kuning keemasan	-

Keterangan: (-) tidak memiliki kandungan steroid tak jenuh; (+) memiliki kandungan steroid tak jenuh.

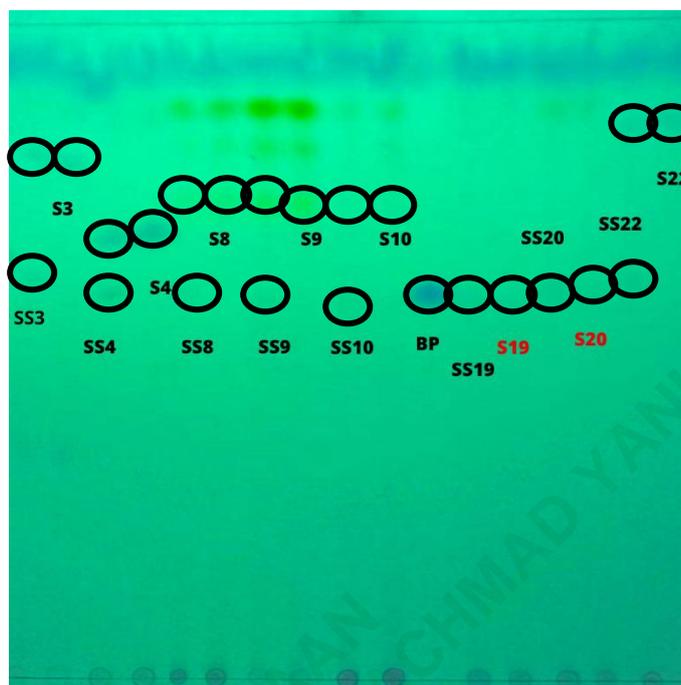
Pada uji steroid dan terpenoid, filtrat jamu pegal linu direaksikan dengan asam sulfat pekat (H₂SO₄). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa beberapa jamu diantaranya sampel 3, sampel 4, sampel 8, sampel 9, sampel 10, sampel 19, dan sampel 20 mengandung senyawa steroid tak

jenuh ditandai dengan munculnya cincin warna merah (Fitriyani et al., 2011) atau lapisan bawah berwarna merah (endapan merah) (Abdillah et al., 2017). Beberapa jamu lainnya mengandung senyawa terpenoid/triterpenoid ditandai pergantian warna dari kuning menjadi merah kecoklatan (Das et al., 2014) atau kuning keemasan (Abdillah et al., 2017).

b. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Setelah melalui analisis reaksi warna, sampel yang mendapatkan hasil positif mengandung steroid tak jenuh dilakukan analisis KLT. Analisis ini dilakukan dengan tujuan mengetahui ada tidaknya senyawa penanda pada sampel. Pada penelitian ini, senyawa penanda yang diteliti adalah deksametason. Baku pembanding yang dipakai adalah deksametason BPFI.

Sampel yang digunakan memiliki konsentrasi sebesar 20.000 ppm. Masing-masing sampel dan standar deksametason ditotolkan sebanyak ± 5 μL , dengan fase diam plat silika gel GF254 yang bersifat relatif polar, mengandung silika dengan gipsium sebagai agen pengikat, serta indikator fluoresen yang dapat berfluorosensi/berpendar. Pembentukan warna dapat dilihat di bawah sinar UV 254 nm. Fase gerak yang digunakan dalam penelitian harus bisa membawa larutan untuk bermigrasi. Adapun fase gerak yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloroform : etanol 96% (9 : 1). Hasil KLT ditunjukkan pada **Gambar 5**. Pada saat penotolan digunakan 3 larutan diantaranya, larutan 1 adalah baku pembanding deksametason yang digunakan sebagai standar, larutan 2 adalah sampel *spike* (sampel + baku pembanding) dengan tujuan apabila terdapat kandungan deksametason dalam sampel dengan jumlah yang kecil dapat terdeteksi dengan menggunakan metode *spike*, dan larutan 3 adalah sampel yang digunakan dalam penelitian. Sampel yang dikatakan positif memiliki kandungan senyawa deksametason apabila memiliki Rf yang sama atau $< 0,05$ dengan Rf baku pembanding tanpa adanya penambahan standar baku ke dalam sampel.



Gambar 5. Hasil Uji Kualitatif KLT Sampel 3, 4, 8, 9, 10, 19, 20, dan 22 dengan keterangan BP: Baku Pembanding; SS: Sampel Spike (Sampel+Baku); S: Sampel.

Hasil elusi dari penelitian ini terdapat beberapa bercak noda yang sejajar dengan baku pembanding. Nilai Rf dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Nilai Rf pada Masing-masing Sampel Jamu Uji

No	Larutan	Jarak Noda (cm)	Eluen	Nilai Rf	Keterangan
1	Spike + Sampel 3	11,5	18	0,63	+
2	Sampel 3	14,5	18	0,80	-
3	Spike + Sampel 4	11	18	0,61	+
4	Sampel 4	12,5	18	0,69	-
5	Spike + Sampel 8	11	18	0,61	+
6	Sampel 8	13,5	18	0,75	-
7	Spike + Sampel 9	11	18	0,61	+
8	Sampel 9	13,5	18	0,75	-
9	Spike + Sampel 10	11	18	0,61	+
10	Sampel 10	16	18	0,88	-
11	Baku Pembanding	11	18	0,61	Pembanding
12	Spike + Sampel 19	11	18	0,61	+
13	Sampel 19	11	18	0,61	+
14	Spike + Sampel 20	11	18	0,61	+
15	Sampel 20	11,5	18	0,63	+

No	Larutan	Jarak Noda (cm)	Eluen	Nilai Rf	Keterangan
16	Spike + Sampel 22	11,5	18	0,63	+
17	Sampel 22	15,5	18	0,86	-

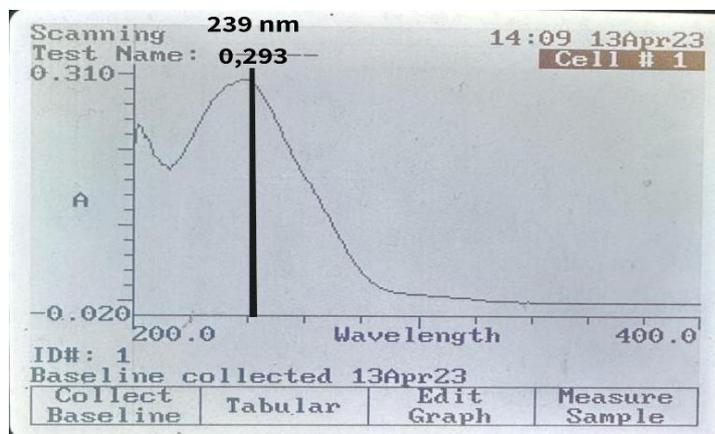
Keterangan: (-) tidak memiliki kandungan deksametason; (+) memiliki kandungan deksametason.

Dari hasil penelitian, diperoleh 2 sampel yang mempunyai nilai Rf hampir mirip dengan baku pembanding. Apabila selisih antara nilai Rf sampel dengan Rf pembanding $< 0,05$ maka dapat dinyatakan bahwa sampel positif, tetapi jika selisih antara Rf sampel dengan Rf pembanding $\geq 0,05$ maka sampel dinyatakan negatif (Husna dan Mita, 2020).

2. Hasil Analisis Kuantitatif Deksametason

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Deksametason

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui panjang gelombang pengukuran deksametason agar mendapatkan absorbansi yang optimum. Pada penelitian ini diperoleh panjang gelombang maksimum yaitu 239 nm dengan nilai absorbansi 0,239. Panjang gelombang tersebut dapat dilihat pada **Gambar 6**. Berdasarkan Farmakope Indonesia Edisi VI, adapun panjang gelombang maksimum deksametason adalah 239 nm dengan perbedaan tidak lebih dari 3% sehingga panjang gelombang maksimum yang didapatkan dari penelitian ini masuk ke dalam rentang yang dipersyaratkan Farmakope Indonesia Edisi VI.

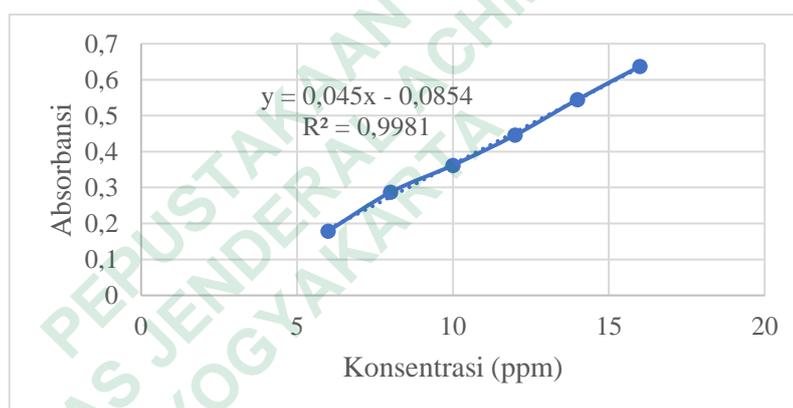


Gambar 6. Panjang Gelombang Maksimum Deksametason

b. Kurva Baku Deksametason

Setelah diperoleh panjang gelombang maksimum, selanjutnya dilakukan pembuatan seri kadar kurva baku. Pembuatan kurva baku pada penelitian ini menggunakan baku deksametason BPF1 dengan konsentrasi 6, 8, 10, 12, 14, dan 16 ppm. Hasil kurva baku ini digunakan untuk menentukan persamaan garis yang didapat dari metode kuadrat terkecil yaitu $y = bx + a$, sehingga persamaan ini akan menghasilkan koefisien korelasi (r).

Kurva ini akan menghubungkan nilai antara absorbansi dan konsentrasi. Jika sesuai dengan Hukum *Lambert-Beer* maka kurva kalibrasi akan berbentuk garis lurus seperti pada **Gambar 7**.



Gambar 7. Kurva Kalibrasi Standar Deksametason

Persamaan kurva kalibrasi deksametason dengan rentang kadar 6-16 ppm adalah $y = 0,0449x - 0,0853$ dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9990 dan r tabel sebesar 0,8114, dimana nilai r hitung $>$ r tabel sehingga nilai regresi dapat diterima.

c. Kadar Deksametason dalam Sampel

Berdasarkan hasil analisis dengan KLT diperoleh 2 sampel jamu yaitu sampel 19 dan 20 mengandung Deksametason, kedua sampel tersebut kemudian dianalisis menggunakan Spektrofotometer UV-Vis untuk dihitung kadarnya dengan persamaan garis pada kurva kalibrasi standar deksametason. Nilai kadar dari 2 sampel yang dianalisis dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Kadar Sampel

Kode Sampel	$\bar{x} \pm LE$ (%)	SD	CV (%)
19	$2,8321 \pm 0,1543$	0,0970	3,4250
20	$2,4774 \pm 0,1578$	0,0992	4,0041

Pada tabel diatas, sampel 19 menunjukkan nilai rata-rata kadar deksametason sebesar $2,8321 \pm 0,1543\%$ dengan nilai $SD = 0,0970$ dan $CV = 3,4250\%$ sedangkan sampel 20 memiliki rata-rata kadar sebesar $2,4774 \pm 0,1578\%$ dengan nilai $SD = 0,0992$ dan $CV = 4,0041$. Nilai CV dari penelitian ini telah memenuhi syarat karena $< 5\%$ (Wardhani dan Nurbayanti 2017).

B. Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan analisis kadar deksametason pada jamu pegal linu yang diperoleh dari beberapa pasar di Kota Yogyakarta dengan 5 kecamatan diantaranya Gondokusuman, Gondomanan, Umbulharjo, Jetis, dan Wirobrajan. Tahapan awal penelitian dilakukan analisis kualitatif sampel dengan reaksi warna *Salkowski*, untuk mengetahui adanya kandungan senyawa metabolit sekunder berupa steroid tak jenuh (Fitriyani et al., 2011). Dilakukan analisis terhadap steroid tak jenuh karena deksametason merupakan salah satu steroid tak jenuh golongan kortikosteroid dengan aktivitas anti inflamasi yang sangat kuat (Ryansyah, 2022). Apabila dikonsumsi secara terus-terusan dapat menimbulkan efek samping yang tidak baik diantaranya dapat menyebabkan *moon face*, retensi cairan dan elektrolit, hiperglikemia, glaukoma, gangguan pertumbuhan, osteoporosis, daya tahan terhadap infeksi menurun, *miopati*, gangguan lambung, gangguan hormon dan lain-lain (Khoirunnisa et al., 2017).

Uji steroid dilakukan dengan melarutkan sampel dengan metanol kemudian disaring. Metanol digunakan sebagai pelarut karena memiliki sifat polar dengan nilai indeks polaritas 5,1. Metanol juga salah satu pelarut yang memiliki sifat umum/*universal* sehingga mampu melarutkan analit yang memiliki sifat polar dan nonpolar. Metanol juga mampu menarik alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid dari tanaman (Abdillah, et al., 2017). Sampel dalam penelitian ini adalah jamu yang menggunakan bahan bahan dasar dari tanaman. Hasil filtrat sampel direaksikan

dengan asam sulfat pekat (H_2SO_4) yang akan menyebabkan terbentuknya cincin merah atau terbentuknya endapan merah dapat dikatakan positif mengandung steroid tak jenuh (Fitriyani et al., 2011). Asam sulfat berfungsi sebagai pemutus ikatan ester lipid. Ketika asam sulfat ditambahkan ke dalam campuran yang berisi kolesterol, maka molekul air berpindah dari gugus C3 kolesterol, kolesterol kemudian teroksidasi membentuk 3,5 kolestadiena. Produk ini dikonversi menjadi polimer yang mengandung kromofor. Apabila dalam sampel tersebut terdapat kolesterol, maka lapisan kolesterol di bagian atas menjadi berwarna merah (Mamuaja, 2017). Dari 22 sampel yang dianalisis dengan reaksi warna *Salkowski* terdapat 8 sampel positif mengandung steroid tak jenuh dan dicurigai mengandung deksametason, namun metode reaksi warna hanya dapat digunakan untuk skirining awal dan hasilnya terkadang bias serta kurang selektif sehingga perlu dilakukan analisis lanjutan seperti kromatografi lapis tipis (KLT).

Hasil analisis KLT diperoleh 2 sampel yang positif deksametason, hal ini dikarenakan metode KLT lebih spesifik untuk mendeteksi senyawa yang terdapat di dalam sampel. Adapun prinsip KLT ialah memisahkan kandungan kimia berdasarkan prinsip adsorpsi, desorpsi, dan elusi (Husna dan Mita 2020). Adsorpsi terjadi saat larutan sampel ditotolkan pada plat KLT silika gel GF254 (fase diam) yang sudah diaktivasi terlebih dahulu dengan dipanaskan menggunakan oven pada suhu $100^{\circ}C$ selama 30 menit. Desorpsi merupakan peristiwa pada saat kandungan kimia yang teradsorpsi pada fase diam didorong oleh fase gerak (eluen) sedangkan elusi yaitu peristiwa ketika kandungan kimia ikut dibawa oleh eluen. Fase gerak yang dipakai adalah kombinasi antara kloroform dan etanol 96% (9:1) yang merupakan eluen non polar. Jika sampel dapat bermigrasi mengikuti fase gerak dan tidak tertahan dalam fase diam, maka senyawa yang terdapat dalam sampel memiliki kandungan senyawa non polar.

Silika gel GF 254 merupakan plat yang dapat menghasilkan fluoresensi pada panjang gelombang 254 nm karena adanya gugus kromofor pada noda. Berwarna gelap pada panjang gelombang 254 nm, sedangkan pada panjang gelombang 366 nm akan menghasilkan bercak yang berfluoresensi (memancarkan cahaya) (Husna dan Mita 2020). Hasil dari penelitian ini bercak noda yang

diperoleh berupa warna gelap (ungu) dan terdapat 3 sampel yang menghasilkan warna fluoresensi kuning yang dicurigai merupakan senyawa kurkumin.

Langkah pemisahan senyawa dari sampel jamu pegal linu diawali dengan penjuanan *chamber*. *Chamber* telah jenuh ditandai dengan terbasahnya kertas saring sampai ke atas *chamber*. Tujuan dari proses penjuanan adalah agar uap/udara dalam *chamber* terjenuhkan oleh uap pelarut sehingga eluasi kecepatan eluen sama pada semua sisi permukaan plat KLT (Husna dan Mita, 2020). Plat silika gel GF 254 diberi tanda batas atas dan bawah masing-masing 1 cm agar totalan tidak terendam oleh fase gerak, karena jika terendam proses pemisahan dalam penotolan tidak merambat dengan sempurna. Selanjutnya plat diaktifkan dengan tujuan untuk menghilangkan pelarut sisa pencucian dan mengaktifkan gugus silanol (-SiOH) dan siloksan (Si-O-Si) dari plat. Adapun fungsi dari gugus -OH memberikan peluang secara luas untuk memodifikasi gugus tersebut menjadi gugus lain yang lebih aktif (Sari et al., 2015). Lalu dimulai penotolan baku pembanding, sampel *spike* dan sampel pada plat KLT dengan jarak ± 1 cm agar bercak noda pada plat tidak menumpuk saat elusi atau pengembangan dalam *chamber*. Adanya sampel *spike* dalam penelitian ini digunakan untuk melihat proses ekstraksi sampel jamu yang digunakan sudah sesuai atau belum serta apabila terdapat deksametason dalam sampel dengan jumlah kecil dapat terbawa dengan adanya penambahan standar baku. Pada sampel *spike* terlihat 2 bercak noda pada plat KLT yaitu bercak noda baku pembanding deksametason dan bercak noda sampel sehingga proses ekstraksi dapat dikatakan baik karena dapat memisahkan antara sampel dan baku pembanding. Hasil dari KLT terdapat beberapa bercak noda sampel berwarna kuning yang menunjukkan adanya kandungan kurkumin di dalam sampel 8,9, dan 10 yang berasal dari komposisi jamu pegal linu. Terdapat juga 2 bercak sampel 19 dan sampel 20 yang sejajar dengan baku pembanding deksametason, sehingga sampel tersebut dapat dikatakan mengandung deksametason, dengan nilai R_f masing-masing 0,61 dan 0,63. Sampel yang positif mengandung deksametason dari hasil KLT selanjutnya dilakukan analisis secara kuantitatif dengan metode Spektrofotometri UV-Vis.

Analisis secara kuantitatif diawali dengan menentukan panjang gelombang maksimum deksametason. Panjang gelombang maksimum merupakan faktor penting yang mempengaruhi analisis kimia dalam menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Panjang gelombang maksimum akan memberikan perubahan nilai absorbansi paling besar dalam setiap satuan kadar (Tulandi et al., 2015). Hasil panjang gelombang penelitian ini diperoleh 239 nm sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Budiarti dan Faza (2018) panjang gelombang yang diperoleh yaitu 242,5 nm dan penelitian yang dilakukan Sairam et al., (2015) serta Heda et al., (2011) diperoleh panjang gelombang 242 nm. Namun berdasarkan Farmakope Indonesia Edisi VI panjang gelombang maksimum Deksametason adalah 239 nm dengan perbedaan tidak lebih 3% (Anonim, 2020).

Selain panjang gelombang, kurva kalibrasi juga mempengaruhi analisis kimia sehingga apabila dilakukan pengukuran yang berulang/replikasi dapat meminimalkan terjadinya kesalahan pengukuran. Kurva baku merupakan kurva yang didapatkan dengan cara memplotkan nilai absorban/penyerapan dengan konsentrasi larutan standar dalam beberapa variasi menggunakan panjang gelombang maksimum. Kurva ini akan menghubungkan antara absorbansi dengan konsentrasi. Apabila sesuai dengan Hukum *Lambert-Beer* maka kurva yang akan diperoleh berupa garis lurus (Tulandi et al., 2015). Adapun hasil pengukuran kurva kalibrasi deksametason penelitian ini dapat dilihat pada **Lampiran 6**, dengan persamaan garis $y = 0,0449x - 0,0853$ dan koefisien korelasi $(r) = 0,9990$. Dimana nilai linieritas yang bagus adalah $0,995 \leq r \leq 1$, yang berarti bahwa nilai koefisien korelasi yang didapat menunjukkan adanya hubungan yang linier antara dua variabel. Adapun nilai koefisien korelasi (r) dalam penelitian ini dapat dikatakan linier atau baik karena hasilnya mendekati satu (Khaldun, 2018).

Penentuan kadar Deksametason dalam sampel dilakukan dengan mengukur nilai absorbansi sampel pada panjang gelombang maksimum deksametason yaitu 239 nm. Nilai absorbansi yang didapatkan bergantung pada kadar deksametason yang terdapat di dalam sampel. Apabila sampel memiliki banyak kandungan deksametason, maka nilai absorbansi akan semakin besar begitu pula sebaliknya. Hal ini disebabkan oleh banyaknya molekul yang menyerap cahaya pada panjang

gelombang 239 nm. Dari 22 sampel yang dianalisis dalam penelitian ini terdapat 2 sampel positif mengandung deksametason yang diperoleh dari pasar-pasar yang ada di Kota Yogyakarta. Adapun rata-rata kadar deksametason yang terdapat dalam sampel jamu pegal linu yaitu sebesar $2,7905 \pm 0,1515\%$ b/v dan $2,5141 \pm 0,1453\%$ b/v.

Penelitian terdahulu terkait analisis deksametason dalam jamu pegal linu dengan metode spektrofotometri UV-Vis sudah pernah diteliti oleh Ryansyah (2022), penelitian tersebut mendapatkan hasil bahwa semua sampel dari 5 sampel yang diperoleh melalui *e-commerce* positif memiliki kandungan deksametason dari berbagai konsentrasi. Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut dapat dikatakan bahwa jamu pegal linu yang beredar di pasaran masih sering dijumpai mengandung BKO. Hal ini dapat disebabkan beberapa faktor, diantaranya rendahnya kepatuhan produsen terhadap peraturan yang berlaku (Roihanah, 2019), serta disebabkan kurangnya edukasi kepada masyarakat terkait bahayanya BKO apabila dicampur dengan obat tradisional jamu. Penambahan BKO sebenarnya telah dilarang dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 007 Tahun 2012 Tentang Registrasi Obat Tradisional. Sehingga, perlunya edukasi kepada masyarakat agar pembuatan jamu sesuai dengan cara pembuatan obat tradisional yang baik (CPOTB).