

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Analisis kualitatif

a. Kromatografi Lapis Tipis

Pada penelitian ini dilakukan analisis secara kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Optimasi fase gerak dilakukan sebanyak dua kali hingga diperoleh hasil yang optimal. Hasil tersebut dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Optimasi Fase Gerak KLT

No.	Fase Gerak	Hasil
1.	Kloroform : methanol (8:2)	Hasil yang didapat saat disinari dengan lampu UV 254 nm noda baku pembanding dan sampel tidak nampak
2.	Etil asetat : kloroform (9:1)	Hasil yang didapatkan saat disinari dengan lampu UV 254 nm noda baku pembanding dan sampel tampak terlihat

Berdasarkan hasil optimasi penentuan fase gerak, kombinasi etil asetat : kloroform (9:1) merupakan fase gerak yang dapat memisahkan komponen senyawa dalam sampel jamu serbuk pegal linu, sedangkan fase diam yang digunakan adalah plat silika gel GF₆₀. Hasil elusi dari penelitian ini terdapat bercak noda yang sejajar dengan baku pembanding pada sampel ke 4 dan ke 13, yang bisa dilihat pada Gambar 9. Untuk hasil KLT secara keseluruhan terdapat pada Lampiran 4.



Gambar 9. Hasil uji KLT baku pembanding dan sampel jamu (BP : Baku Pembanding, S3 : Sampel 3, S4 : Sampel 4. S13 : Sampel 13, dan S14 : Sampel 14)

Kemudian untuk memastikan positif atau tidaknya prednison dalam sampel jamu dilakukan perhitungan Rf dari masing-masing bercak noda pada tiap sampel jamu. Nilai Rf dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Identifikasi Prednison Dengan KLT

Jamu	Nilai Rf		Keterangan
	254 nm	Warna noda	
Pembanding	0,66	Ungu	+
Jamu 1	0,75	Ungu	-
Jamu 2	0,77	Kuning	-
Jamu 3	0,83	Ungu	-
Jamu 4	0,66	Ungu	+
Jamu 5	0,87	Kuning	-
Jamu 6	0,87	Kuning	-
Jamu 7	1	Kuning	-
Jamu 8	1	Kuning	-
Jamu 9	1	Kuning	-
Jamu 10	1	Kuning	-
Jamu 11	0,88	Ungu	-
Jamu 12	0,92	Kuning	-
Jamu 13	0,68	Ungu	+

Jamu	Nilai Rf		Keterangan
	254 nm	Warna noda	
Jamu 14	0,93	Ungu	-
Jamu 15	1	Kuning	-
Jamu 16	1	Kuning	-
Jamu 17	1	Kuning	-
Jamu 18	1	Kuning	-
Jamu 19	1	Kuning	-
Jamu 20	1	Kuning	-

Keterangan :

+ : Positif mengandung prednison

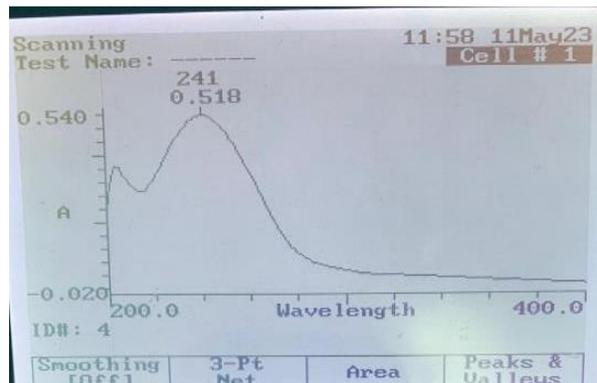
- : Negatif mengandung prednison

Nilai Rf yang baik berada pada rentang 0,2 – 0,8. Selisih antara Rf sampel dengan Rf pembanding $< 0,05$ menyatakan bahwa sampel positif, tetapi jika selisih antara Rf sampel dengan Rf pembanding $\geq 0,05$ maka sampel negatif (Wulandari, 2011). Berdasarkan hasil di atas yang positif mengandung prednison adalah pada sampel 4 dan sampel 13. Selanjutnya dilakukan penetapan kadar sampel yang positif secara kuantitatif dengan Spektrofotometri UV-Vis.

2. Analisis Kuantitatif

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Prednison

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang 200 nm – 400 nm dengan baku standar konsentrasi 8 ppm. Panjang gelombang dengan nilai absorbansi maksimal dipilih sebagai panjang gelombang maksimum. Nilai panjang gelombang maksimum diperoleh sebesar 241 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,518 yang artinya nilai absorbansi terbaca secara maksimum pada panjang gelombang tersebut. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada Gambar 10.

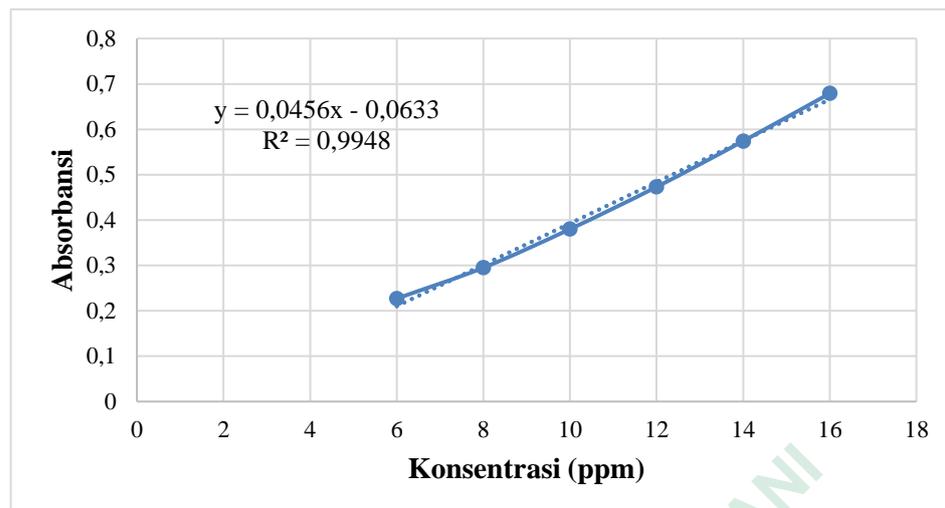


Gambar 10. Hasil pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Baku Prednison

Menurut *National Center for Biotechnology Information* (2023) menyatakan serapan maksimum untuk prednison adalah 238 nm. Panjang gelombang hasil penelitian mengalami pergeseran kearah batokromik.

b. Penentuan Kurva Baku Prednison

Kurva baku merupakan kurva yang diperoleh dengan memplotkan nilai absorbansi dengan konsentrasi larutan standar yang bervariasi menggunakan panjang gelombang maksimum. Kurva ini digunakan sebagai acuan untuk pengukuran sampel dalam penelitian. Penentuan kurva baku prednison pada penelitian ini menggunakan seri konsentrasi 6, 8, 10, 12, 14, dan 16 ppm. Pengukuran kurva baku prednison menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh, yaitu 241 nm. Dari data absorbansi larutan kurva baku prednison diperoleh kurva regresi linier antara konsentrasi larutan baku prednison terhadap absorbansi yang bisa dilihat pada Gambar 11. Pembuatan kurva baku digunakan untuk memperoleh persamaan garis yaitu $y = bx + a$, Persamaan tersebut akan menghasilkan koefisien korelasi (r).



Gambar 11. Hubungan Antara Konsentrasi Larutan Baku Prednison Terhadap Absorbansi

Persamaan garis yang didapatkan $y = 0,0456x - 0,0633$ dengan nilai koefisien korelasi (r) 0,9974 yang bisa dikatakan baik atau linier karena nilai r mendekati satu atau lebih besar dari r tabel.

c. Penetapan Kadar Prednison Dalam Sampel Jamu

Penetapan kadar kandungan prednison dalam jamu serbuk pegal linu dilakukan dengan alat spektrofotometer UV-Vis. Berdasarkan Hukum *Lambert Beer* semakin besar konsentrasi larutan semakin besar absorbansinya dan rentang nilai absorbansi yang baik adalah 0,2 – 0,8 (Suhartati, 2017).

Untuk perhitungan nilai kadar dari kandungan prednison dalam sampel jamu pegal linu, dimasukkan nilai absorbansi sampel yang telah didapatkan lalu dimasukkan dalam persamaan regresi linier $y = 0,0456x + (-0,06393)$. Selanjutnya dimasukkan pada rumus perhitungan kadar sesungguhnya yaitu kadar terhitung dikali volume dikali faktor pengenceran dibagi berat sampel. Seluruh nilai kadar sampel jamu pegal linu yang sudah didapatkan dihitung nilai statistika diantaranya nilai rata-rata, nilai standar deviasi, nilai koefisien variasi, dan nilai LE. Hasil perhitungan nilai kadar dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Pengukuran Kadar Sampel

Sampel	Kadar
Jamu 4	5,2613 ± 0,6608
Jamu 13	3,3854 ± 0,5018

Keterangan : Kadar dinyatakan dalam rata-rata ± LE

B. Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan analisis Bahan Kimia Obat (BKO) prednison yang terdapat dalam jamu serbuk pegal linu. Pengumpulan sampel jamu dilakukan dengan teknik *purposive sampling* yaitu dimana sampel yang akan diambil sudah ditentukan kriterianya terlebih dahulu. Berdasarkan survei lokasi pasar yang sudah dilakukan dari beberapa kecamatan dan dipersempit menjadi 5 kecamatan yang terdiri dari kecamatan Gondokusuman, Gondomanan, Jetis, Umbulharjo, dan Wirobrajan.

Dari pemeriksaan organoleptis yang telah dilakukan diketahui bahwa sampel jamu sebagian besar berwarna kecoklatan, bau khas jamu serta rasa yang pahit. Pada proses ekstraksi sampel dilakukan dengan cara pelarutan serbuk jamu digunakan pelarut etanol 96%. Kemudian dilakukan penyaringan untuk memperoleh filtrat yang bebas endapan. Etanol merupakan pelarut organik yang sering digunakan untuk proses ekstraksi. Beberapa alasan penggunaan etanol yang sangat luas antara lain karena etanol relatif tidak toksik dibandingkan dengan aseton dan metanol, biaya murah, dapat digunakan pada berbagai metode ekstraksi, serta aman untuk ekstrak yang akan dijadikan obat-obatan dan makanan (Chen dkk., 2020). Alasan lainnya adalah etanol merupakan pelarut yang dapat menyari senyawa yang bersifat semi polar. Sifat dari prednison adalah non polar sehingga dipilih pelarut etanol karena pelarut ini masih mampu melarutkan prednison (Fan dkk., 2020).

Metode kualitatif yang digunakan pada penelitian ini adalah Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang dapat memisahkan komponen senyawa berdasarkan perbedaan tingkat interaksi dalam dua fase yaitu fase gerak dan fase diam. KLT dapat digunakan untuk mengidentifikasi

senyawa yang terdapat dalam campuran secara kualitatif, yaitu dengan membandingkan Rf baku pembanding dengan Rf sampel. Selain itu, KLT merupakan teknik analisis yang sederhana, hemat biaya, mudah dilakukan, dan hanya dibutuhkan sedikit cuplikan sampel untuk analisisnya (Coskun, 2016). Senyawa prednison yang ada pada jamu pegal linu akan dipisahkan oleh adanya fase gerak dan fase diam yang mempunyai tingkat polaritas berbeda (Kumar dkk., 2013).

Penelitian ini menggunakan fase diam berupa silika gel GF₂₅₄ yang memiliki sifat relatif polar, mengandung silika dengan gipsum sebagai agen pengikat, dan indikator fluoresen yang dapat berfluorosensi. Pembentukan warna dapat diamati di bawah sinar UV. Sebelum memilih fase gerak yang sesuai terlebih dahulu dilakukan optimasi fase gerak dengan tujuan untuk mendapatkan hasil pemisahan yang baik. Percobaan pertama optimasi fase gerak dengan kloroform dan metanol (8:2) sesuai dengan Farmakope Edisi V, namun hasil yang diperoleh bercak noda baku pembanding maupun sampel tidak nampak saat disinari UV. Hal tersebut dikarenakan konsentrasi penotolan yang kurang, dan dilihat dari hasil nilai Rf yang diperoleh melebihi *range* nilai Rf. Optimasi kedua dipilih kombinasi etil asetat dan kloroform (9:1) yang mengacu pada penelitian Wirastuti (2016) dan Fikayuniar (2020) dengan memberikan hasil bercak noda warna ungu pada baku pembanding dan sampel yang tampak cukup jelas saat divisualisasi dibawah UV serta memberikan nilai Rf yang masuk dalam rentang 0,2 – 0,8. Fase gerak yang digunakan berupa etil asetat dan kloroform (9:1) bersifat non polar yang nantinya akan membawa senyawa prednison yang mempunyai sifat yang sama yaitu non polar untuk melewati fase diam (silika gel). Hasil pemisahan yang baik dapat dilihat dari bercak noda penotolan yang berbentuk bulat dan jelas serta nilai Rf yang diperoleh berada pada rentang 0,2 – 0,8 (Suhartati, 2017). Warna bercak noda sama dan sejajar antara baku pembanding dan sampel, serta senyawa terpisah karena adanya perbedaan kepolaran (Wulandari, 2011). Setelah pemilihan fase gerak yang sesuai dilakukan penjenuhan *chamber* dengan kertas saring yang bertujuan untuk mengoptimalkan proses

pengembangan fase gerak, memperkecil penguapan pelarut sehingga akan menghasilkan bercak lebih bundar dan baik. Untuk mengidentifikasi senyawa target yang dimiliki dalam sampel dianalisis dengan menggunakan faktor retardasi atau *retardation factor* (Rf) (Rollando & Afthoni, 2019).

Pada pemisahan ini digunakan plat yang sebelumnya diaktivasi dengan oven pada suhu 100°C selama 30 menit untuk menghilangkan kadar air yang terdapat pada plat. Uap air yang ada pada plat bisa meningkatkan polaritas dari plat dan akan menurunkan aktivitas plat, sehingga bisa mengakibatkan nilai Rf lebih besar daripada yang sebenarnya (Wulandari, 2011). Selanjutnya dilakukan penotolan baku pembanding dan sampel jamu pada plat yang sudah diaktivasi. Proses elusi dilakukan hingga eluen mencapai batas atas dari plat KLT. Area noda sampel jamu kemudian dibandingkan dengan area noda baku pembanding dan dihitung nilai Rf dari masing-masing noda. Nilai Rf yang kecil menunjukkan daya pisah dari senyawa zat yang dielusi adalah minimum, sedangkan nilai Rf yang besar menunjukkan daya pisah senyawa zat yang dielusi adalah maksimal (Husna & Mita, 2020). Berdasarkan hasil KLT terdapat dua sampel yang positif, yaitu sampel 4 dan sampel 13 yang memiliki bercak noda sejajar dengan baku pembanding. Dalam beberapa sampel juga terdapat noda berwarna kuning yang menunjukkan kandungan senyawa lain seperti kurkumin. Selisih antara Rf sampel dengan Rf pembanding $< 0,05$ menyatakan bahwa sampel positif mengandung bahan kimia obat. Dari perhitungan Rf menunjukkan bahwa jamu serbuk ke 4 dan 13 mengandung prednison.

Selanjutnya untuk mengetahui kadar kandungan bahan kimia obat prednison dilakukan pengukuran dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Alasan digunakan metode spektrofotometri UV-Vis adalah karena senyawa prednison memiliki ikatan rangkap terkonjugasi dan gugus karbonil sebagai gugus kromofor serta gugus OH sebagai gugus auksokrom (Suhartati, 2017).

Sebelum melakukan perhitungan kadar sampel pada spektrofotometri UV-Vis terlebih dahulu ditentukan panjang gelombang maksimum. Pelarut yang digunakan adalah etanol *p.a* dan juga digunakan sebagai blangko dengan tujuan untuk mengkalibrasi alat instrument spektrofotometer UV-Vis agar dapat meminimalisir kesalahan pada pemakaian (Parhan, 2018). Pemilihan pelarut *pro analysis* karena memiliki kemurnian yang tinggi dibanding pelarut teknis. Hasil pengukuran panjang gelombang prednison adalah 241 nm dengan absorbansi sebesar 0,518. *National Center for Biotechnology Information* (2023) menyatakan serapan maksimum untuk prednison adalah 238 nm. Pada penelitian sebelumnya Helwandi (2016) melakukan pengukuran panjang gelombang maksimum prednison dan diperoleh pada 242 nm. Panjang gelombang hasil penelitian mengalami pergeseran yang disebut batokromik, yaitu pergeseran terjadi karena adanya efek dari pelarut yang digunakan, syarat selisih perbedaan panjang gelombang maksimal adalah minimal 5 nm (Suhartati, 2017). Alasan lain terjadinya perbedaan panjang gelombang maksimum kemungkinan karena perbedaan alat instrument spektrofotometer UV-Vis dan baku pembanding yang digunakan. Setelah penentuan panjang gelombang maksimal, selanjutnya dilakukan pembuatan seri konsentrasi yaitu, 6, 8, 10, 12, 14, dan 16 ppm. Dari pembacaan absorbansi pada seri konsentrasi ini kemudian dibuat kurva regresi antara konsentrasi dengan absorbansi sehingga diperoleh nilai korelasi (r) sebesar 0,9974. Nilai koefisien korelasi (r) menunjukkan adanya hubungan linieritas antara kedua variabel. Pada penelitian ini diperoleh nilai r sebesar 0,9974, yang bisa dikatakan linier atau baik karena hasilnya mendekati satu. Selain itu nilai r dikatakan baik apabila nilai r hitung lebih besar dari r tabel yaitu 0,8114 (Tulandi dkk., 2015).

Tahapan selanjutnya pembacaan absorbansi kadar sampel jamu yang dinyatakan positif mengandung prednison setelah dilakukan analisis kualitatif dengan KLT. Pembacaan absorbansi kadar ini dilakukan replikasi sebanyak 4 kali dengan tujuan meminimalisir terjadinya kesalahan saat analisis sampel. Kemudian setelah diperoleh nilai

absorbansi dan nilai kadar dari sampel yang dinyatakan positif, selanjutnya dilakukan perhitungan statistika meliputi nilai rata-rata, SD, CV, dan LE. Nilai rata-rata \pm LE sampel 4 yang diperoleh adalah $5,19 \pm 0,4684$ %b/v dan sampel 13 sebesar $3,44 \pm 0,3731$ %b/v. Dari hasil perhitungan dapat disimpulkan nilai SD sampel jamu dari penelitian ini dikatakan baik karena nilai SD lebih kecil dibanding nilai rata-rata (Yusniyanti & Kurniati, 2017), sedangkan nilai CV yang diperoleh dikatakan kurang baik karena hasilnya lebih dari 5% (Sri dkk., 2017). Dari dua puluh sampel jamu pegal linu terdapat dua sampel yang positif mengandung prednison dan setelah diperiksa pada website resmi BPOM kedua sampel jamu tersebut tidak terdaftar di BPOM (Fikayuniar, 2021; Limbong & Syahrul, 2015).

Menurut Riskesdas (2010) presentase masyarakat dalam mengkonsumsi jamu sebanyak 59,12%, tingginya presentase ini karena masyarakat menganggap jamu memiliki sedikit efek samping, sehingga banyak oknum pedagang yang menambahkan bahan kimia obat (BKO) baik sengaja maupun tidak disengaja. Hal ini perlu menjadi perhatian bahwa ternyata masih ada jamu yang mengandung BKO prednison, dimana menurut Permenkes No. 246 tahun 1990 pasal 23 dan Permenkes No. 07 tahun 2012 pasal 7 menyatakan bahwa obat tradisional tidak boleh mengandung bahan kimia sintetik dan tidak mengandung bahan obat narkotika. Jamu yang mengandung BKO ditandai dengan efek terapi yang cepat atau cespleng.