

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Analisis Kualitatif Jamu Pelangsing

a. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

1) Optimasi fase gerak

Langkah awal yang dilakukan dalam analisis kualitatif dengan KLT adalah optimasi fase gerak. Optimasi ini dilakukan menggunakan beberapa variasi pelarut. Hasil dari optimasi ditunjukkan pada **Tabel 4** dan **Lampiran 6**. Berdasarkan hasil tersebut, dipilih fase gerak berupa toluen dan metanol dengan perbandingan 9:1. Fase gerak ini dipilih karena terdapat penampakan bercak yang jelas pada standar maupun sampel yang disinari oleh UV 254 nm.

Tabel 4. Hasil Optimasi Fase Gerak

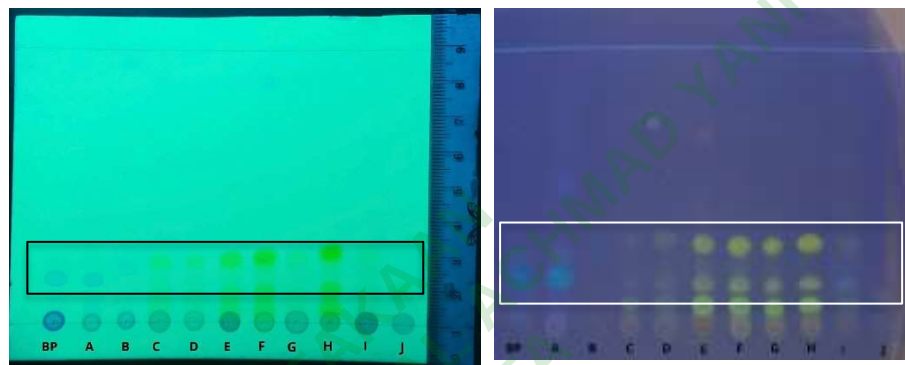
Fase gerak	Hasil UV 254
Etil asetat: N-heksan (7:3)	Tidak menghasilkan bercak pada standar sedangkan pada sampel yang serdeteksi hanya senyawa kurkuminnya saja dan spot tidak terlihat jelas.
Toluen : metanol (9:1)	Bercak pada sampel dan standar terlihat jelas dan tidak terjadi <i>tailing</i> dengan nilai Rf 0,31. Selain itu, adanya bercak yang berwarna gelap baik pada standar maupun sampel.

2) Uji KLT

Analisis menggunakan metode KLT dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya senyawa sibutramin HCl pada sampel. Pada penelitian ini, baku pembanding yang dipakai adalah sibutramin HCl BPFI dan sampel yang digunakan yaitu 10 sampel jamu serbuk pelangsing yang beredar di 5 pasar Kota Yogyakarta yaitu pasar Beringharjo, Kotagede, Serangan, Prawirotan Baru, dan Demangan.

Sampel yang digunakan memiliki konsentrasi sebesar 100.000 ppm, sedangkan konsentrasi standar yang digunakan adalah 500 ppm.

Masing-masing sampel dan standar sibutramin HCl ditotolkan sebanyak 5 totolan dalam fase diam plat silika gel F254 yang bersifat relatif polar. Adapun fase gerak yang digunakan dalam penelitian ini adalah toluen : metanol (9 : 1). Pada saat proses penotolan, larutan standar dilakukan penotolan sebanyak 1x totolan dan larutan sampel dilakukan 10x totolan. Hasil KLT ditunjukkan pada **Gambar 7**.



Gambar 7. Penampakan noda KLT pada sinar UV 254 (gambar kiri) dan 366 nm (gambar kanan) larutan standar sibutramin HCl (BP) dan sampel A, B, C, D, E, F, G, H, I, dan J

Analisis pada KLT menggunakan nilai R_f sebagai parameter. Sampel dapat dikatakan positif jika selisih antara nilai R_f standar dan sampel $\leq 0,05$ (Nuraini *et al.*, 2024). Selain itu, sampel dapat dikatakan positif jika memiliki warna noda pada sinar UV 254 dan 366 nm yang mirip dengan warna noda pembanding. Berdasarkan hal tersebut terdapat 2 sampel (A dan B) dari 10 sampel uji jamu pelangsing serbuk yang diedarkan di pasar Kota Yogyakarta positif terdapat kandungan BKO sibutramin HCl. Hasil perhitungan nilai R_f dan penampakan warna noda pada KLT disajikan dalam **Tabel 5**.

Tabel 5. Nilai Rf pada masing-masing sampel jamu

No	Larutan	Jarak noda pada 254 nm (cm)	Elusi	Nilai Rf	Warna noda		Keterangan
					254 nm	366 nm	
1	Baku pembanding (BP)	2,49	7,9	0,31	Ungu	Fluoresensi ungu	Pembanding
2	A	2,81	7,9	0,29	Ungu	Fluoresensi ungu	+
3	B	2,31	7,9	0,34	Ungu	Fluoresensi ungu	+
4	C	2,81	7,9	0,35	Kuning	Fluoresensi kuning	-
5	D	2,75	7,9	0,35	Kuning	Fluoresensi Kuning	-
6	E	2,81	7,9	0,35	Kuning	Fluoresensi kuning	-
7	F	2,9	7,9	0,36	Kuning	Fluoresensi Kuning	-
8	G	3,1	7,9	0,39	Kuning	Fluoresensi kuning	-
9	H	3,2	7,9	0,40	Kuning	Fluoresensi kuning	-
10	I	3,39	7,9	0,42	Kuning	Fluoresensi kuning	-
11	J	2	7,9	0,25	Kuning	Fluoresensi kuning	-

Keterangan: (-) tidak memiliki kandungan sibutramin HCl; (+) memiliki kandungan sibutramin HCl jika nilai Rf dan warna noda mirip dengan pembanding

b. *Scanning* panjang gelombang maksimum (λ maks)

Uji kualitatif selanjutnya yaitu dengan membandingkan λ maksimum sampel dan standar yang dilakukan dalam rentang 200-400 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Azizah *et al.*, 2022). Berdasarkan hasil *scanning* λ maksimum, sampel A diperoleh panjang gelombang 223 nm dan sampel B 222 nm. Berdasarkan FI IV, sibutramin HCl mempunyai panjang gelombang maksimum sebesar 224 nm. Sampel dapat dikatakan positif mengandung sibutramin HCl jika perbedaan λ maks sampel dengan standar tidak lebih dari ± 2 nm (Kemenkes RI, 2014). Hasil *scanning* λ maks disajikan dalam **Tabel 6 dan Lampiran 5**.

Tabel 6. Hasil scanning panjang gelombang maksimum sampel

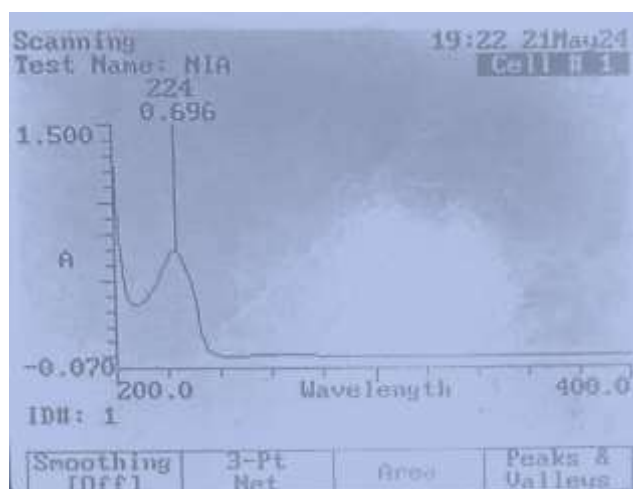
Sampel	λ Maks (nm)	Keterangan
Baku pembanding (BP)	224	+
A	223	+
B	222	+
C	273	-
D	267	-
E	273	-
F	261	-
G	265	-
H	276	-
I	270	-
J	274	-

Keterangan: (-) tidak mengandung sibutramin HCl; (+) mengandung sibutramin HCl.

2. Hasil Analisis Kuantitatif Sibutramin HCl

a. Penentuan panjang gelombang maksimum sibutramin HCl

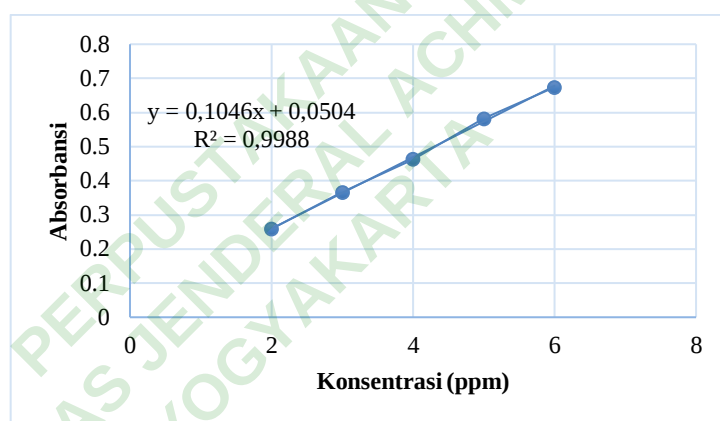
Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui panjang gelombang pengukuran sibutramin HCl agar mendapatkan absorbansi yang optimum. Pada penelitian ini diperoleh panjang gelombang maksimum yaitu 224 nm dengan nilai absorbansi 0,696. Panjang gelombang tersebut dapat dilihat pada **Gambar 8**. Berdasarkan Farmakope Indonesia Edisi VI, adapun panjang gelombang maksimum sibutramin HCl adalah 223 nm dengan perbedaan tidak lebih dari ± 2 nm sehingga panjang gelombang maksimum yang didapatkan dari penelitian ini masuk ke dalam rentang yang dipersyaratkan Farmakope Indonesia Edisi VI.



Gambar 8. Panjang gelombang maksimum sibutramin HCl

b. Kurva baku sibutramin HCl

Pembuatan kurva baku pada penelitian ini menggunakan baku sibutramin HCl BPFI dengan konsentrasi 2, 3, 4, 5, dan 6 ppm. Hasil kurva baku ini digunakan untuk menentukan persamaan garis $y = bx + a$ 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 9**. Persamaan kurva kalibrasi sibutramin HCl dengan rentang kadar 2 – 6 ppm adalah $y = 0,1046x + 0,0504$ dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9990 dan r tabel sebesar 0,8783 dimana nilai r hitung $> r$ tabel sehingga nilai regresi dapat diterima (Lestari & Santoso, 2021).



Gambar 9. Kurva baku sibutramin HCl

c. Kadar sibutramin HCl dalam sampel

Berdasarkan hasil analisis kualitatif dengan KLT dan *scanning* panjang gelombang diperoleh 2 sampel jamu pelangsing serbuk, yaitu sampel A dan B positif mengandung sibutramin HCl. Kedua sampel tersebut kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk dihitung kadarnya dengan persamaan garis pada kurva baku sibutramin HCl. Nilai kadar dari 2 sampel yang dianalisis dapat dilihat pada **Tabel 7**. Nilai CV dari penelitian ini telah memenuhi syarat karena $< 5\%$ (Wardhani dan Nurbayanti 2017).

Tabel 7. Hasil pengukuran kadar sibutramin HCl dalam sampel jamu pelangsing serbuk

Sampel	$\bar{x} \pm LE$ (%b/b)	SD	CV (%)
A	$2,4377 \pm 0,0066$	0,0026	1,0964
B	$1,0164 \pm 0,0114$	0,0045	0,4518

B. Pembahasan

Penelitian ini memiliki tujuan mengidentifikasi serta mengukur kandungan senyawa sibutramin HCl pada jamu pelangsing serbuk menggunakan metode analisis kualitatif berupa KLT serta *scanning* λ , dan analisis kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Vis. Pada penelitian ini sampel jamu pelangsing serbuk yang diuji diperoleh dari beberapa pasar Kota Yogyakarta yakni pasar Beringharjo, Kotagede, Serangan, Prawirotaman Baru, dan Demangan. Teknik *sampling* pada pengambilan sampel ini menggunakan *purposive sampling*, dengan mempertimbangkan kriteria inklusi dan eksklusi (Santina *et al.*, 2021). Berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditentukan pada masing-masing pasar diperoleh sebanyak 2 sampel jamu pelangsing serbuk, sehingga total sampel jamu pelangsing serbuk adalah 10 sampel yang diberi kode A, B, C, D, E, F, G, H, I, dan J. Dalam 10 sampel tersebut terdapat 7 sampel yaitu sampel kode C, D, F, G, H, I, dan J yang berlabel BPOM, 2 sampel kode A dan E tanpa label BPOM, dan 1 sampel kode B berlabel BPOM namun tidak terdaftar. Komposisi pada setiap sampel jamu pelangsing mengandung *Guazumae ulmifoliae Folium* (Daun Jati Belanda) sebagai zat aktif untuk meluncurkan BAB dan mengandung *Curcumae domesticae Rhizoma* (rimpang kunyit), namun pada sampel A, B, dan J tidak memiliki kandungan *Curcumae domesticae Rhizoma*.

Langkah kedua, sampel yang diperoleh dilakukan analisis kualitatif dengan metode KLT. KLT adalah suatu metode pemisahan campuran analit dengan cara mengelusi analit melalui suatu lempeng kromatografi. Analit akan terpisah dan dapat divisualisasikan di bawah sinar ultraviolet (Nuraini *et al.*, 2024). Prinsip dari KLT adalah '*like dissolve like*', yakni pemisahan senyawa multi komponen dengan dua fase yang digunakan berupa fase diam dan fase gerak, senyawa pada sampel akan menetap di fase diam jika kepolarannya sama dengan fase diam dan akan mengikuti fase gerak jika kepolarannya sama dengan fase gerak (Oktaviantari *et al.*, 2019). Sifat dari sibutramin HCl adalah polar sehingga pelarut yang digunakan dalam analisis kualitatif KLT yaitu metanol. Penggunaan pelarut metanol untuk KLT dikarenakan pelarut air memiliki sifat yang sangat polar, dimana hal tersebut ditunjukkan dari indeks polaritas air sebesar 10,2. Sedangkan indeks polaritas

metanol sebesar 5,1 (Sugiani *et al.*, 2023). Semakin besar indeks polaritas pelarut, maka akan semakin memiliki sifat polar. Selain itu, fase diam yang digunakan memiliki sifat polar sehingga adanya air dalam sampel dapat mengganggu proses elusi suatu senyawa. Metanol adalah pelarut yang baik untuk banyak senyawa organik termasuk sibutramin HCl karena memiliki polaritas yang sesuai, yaitu bersifat semi polar sehingga mempermudah proses pengembangan kromatogram dan pemisahan. Metanol dipilih karena dapat memfasilitasi pemisahan yang efektif pada plat KLT (Oktaviantari *et al.*, 2019).

Plat KLT sebelum digunakan perlu diaktifkan terlebih dahulu menggunakan oven pada suhu 105°C dalam waktu 30 menit dengan tujuan untuk menghilangkan kelembaban air yang terabsorpsi dalam lempeng plat (Mahdalena *et al.*, 2022). Sedangkan untuk fase gerak yang digunakan adalah hasil dari optimasi yaitu toluen (18 mL) : metanol (2 mL) dengan perbandingan 9:1. Pemilihan fase gerak akan mempengaruhi efektivitas dalam memisahkan komponen-komponen tertentu dalam sampel. Fase gerak toluen : metanol dipilih karena mampu memisahkan sibutramin HCl dalam sampel dengan nilai R_f yang dimilikinya optimal yaitu 0,2 – 0,8. Selain itu, dengan menggunakan fase gerak tersebut penampakan bercak pada standar maupun sampel terlihat jelas. Fase gerak yang dipilih mempunyai sifat non polar karena perbandingan komposisi toluen lebih besar dibandingkan dengan metanol. Berdasarkan sifat dari fase diam, fase gerak, dan sibutramin HCl, maka sampel yang mengandung sibutramin HCl akan cenderung terikat oleh fase diam karena memiliki polaritas yang mirip sehingga nilai R_f sibutramin HCl cenderung kecil. Langkah selanjutnya sebelum proses elusi yaitu penjenuhan *chamber*. Tujuan dari *chamber* yang dijenuhkan ini adalah agar proses elusi tidak terpengaruh oleh uap air dan hanya berasal dari eluen sehingga didapatkan hasil pemisahan yang optimal (Usman & Muin, 2023). Jika proses pengembangan sudah selesai dilakukan, dilanjutkan proses pengamatan bercak menggunakan visualisasi di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Berdasarkan hasil visualisasi diperoleh warna noda pada sampel A dan B mirip dengan pembanding yaitu berwarna ungu pada sinar UV 254 nm dan memberikan fluoresensi ungu pada sinar UV 366 nm. Warna ungu pada noda dapat disebabkan adanya gugus kromofor pada sibutramin HCl, sedangkan

pada sinar UV 366 nm memberikan fluoresensi ungu karena sibutramin HCl memiliki struktur yang rigid (planar). Nilai Rf yang dihasilkan pada masing-masing sampel A dan B yaitu 0,29 dan 0,34. Nilai Rf tersebut masih berada pada kisaran $<0,05$ (0,26 – 0,36). Sehingga berdasarkan kedekatan warna noda dan Rf, maka sampel A dan B diduga mengandung sibutramin HCl.

Untuk memperkuat dugaan berdasarkan hasil KLT, maka dilakukan analisis kualitatif yang kedua yaitu menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan membandingkan λ maks sampel jamu dengan λ maks standar sibutramin HCl (Azizah *et al.*, 2022). Hasil pengamatan pada *scanning* λ maks memberikan hasil positif terhadap 2 sampel, yaitu pada sampel A dengan nilai λ maks yang diperoleh sebesar 223 nm dan pada sampel B sebesar 222 nm. Menurut Kemenkes RI (2014), untuk keperluan identifikasi, sampel dapat dikatakan positif jika perbedaan panjang gelombang maksimal tidak lebih dari ± 2 nm. Disamping itu, pada **Lampiran 5** terlihat bentuk spektra baku pembanding dan sampel A serta sampel B membentuk bukit yang melebar. Hasil dari analisis kualitatif KLT yang diperoleh telah sesuai dan dapat dibuktikan dengan hasil analisis kualitatif dengan *scanning* λ maks. Tahap selanjutnya adalah analisis kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Sampel yang dikatakan positif pada uji kualitatif selanjutnya dilakukan analisis kuantitatif untuk mengetahui kadar sibutramin HCl dalam sampel jamu pelangsing serbuk. Pada analisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis, dilakukan *scanning* panjang gelombang menggunakan pelarut akuades dan metanol untuk mengetahui pelarut yang baik dalam mengabsorpsi sibutramin HCl. Pada **Lampiran 4** terlihat bahwa sibutramin HCl yang dilarutkan menggunakan metanol memiliki *noise* atau gangguan, sedangkan pada pelarut akuades, hasil *scanning* terlihat lebih *smooth* atau halus. Meskipun sibutramin HCl dapat larut dalam kedua pelarut tersebut, namun tidak semua senyawa dapat larut dalam air. Jika menggunakan metanol yang sifatnya cenderung semi polar, dikhawatirkan senyawa lain ikut larut sehingga dapat mengganggu proses penyerapan (absorpsi) sibutramin HCl pada spektrofotometer UV-Vis. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai absorbansi pada pelarut akuades lebih tinggi dari pelarut metanol, artinya sibutramin HCl yang

terabsorpsi pada spektrofotometer UV-Vis dengan pelarut akuades lebih besar dari metanol. Berdasarkan hasil *scanning* λ maks, sibutramin HCl yang dilarutkan dengan metanol diperoleh panjang gelombang maks 229 nm, sedangkan yang dilarutkan dengan akuades diperoleh 224 nm. Penggunaan pelarut metanol menunjukkan adanya pergeseran batokromik, yaitu nilai λ maks semakin menjauh dari λ teoritis.

Sebelum kadar sampel dihitung pada spektrofotometer UV-Vis, ditentukan terlebih dahulu λ maks dengan membuat baku standar berkonsentrasi 1000 ppm. Panjang gelombang maks dapat memberikan serapan optimum sehingga kepekaan yang dihasilkan dapat maksimal (Elsan & Minarsih, 2022). Sibutramin HCl mempunyai gugus kromofor yang berupa benzen klorida sehingga dapat dianalisis menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Umumnya gugus benzen memiliki λ maks sekitar 200 nm, tetapi dengan adanya klorida yang terikat pada benzen maka dapat memberikan pergeseran panjang gelombang menjadi 224 nm (Salmaa & Wattiheluw, 2022). Panjang gelombang sibutramin HCl menurut FI IV 223 nm maka λ maks hasil penelitian memenuhi syarat karena tidak lebih dari ± 2 nm. Setelah ditentukan λ maksimum, langkah selanjutnya adalah pengukuran kurva standar sibutramin HCl.

Pengukuran kurva standar sibutramin HCl bertujuan untuk menghitung kadar sibutramin HCl dalam sampel jamu pelangsing serbuk berdasarkan serapan yang dihasilkan melalui persamaan kurva baku sibutramin HCl yang di dapatkan. Hasil pengukuran kurva baku sibutramine HCl penelitian ini disajikan pada **Gambar 9** dengan persamaan garis yang diperoleh $y = 0,1046x + 0,0504$ dan koefisien korelasi (r) = 0,9990. Menurut Safitri (2014), nilai koefisien korelasi berada direntang $-1 < 0 < 1$ yang berarti menunjukkan hubungan yang linear antara dua variabel, yaitu konsentrasi dengan absorbansi. Hal tersebut sesuai dengan Hukum *Lambert-Beer* menyatakan adanya hubungan yang linear antara absorbansi terhadap konsentrasi larutan sampel. Semakin besar nilai konsentrasi larutan, maka akan menghasilkan nilai absorbansi yang semakin besar. Persamaan regresi linear tersebut kemudian digunakan dalam menghitung kadar sibutramin HCl pada sampel A dan B jamu pelangsing serbuk yang secara kualitatif diduga positif.

Penentuan kadar sibutramin HCl pada sampel jamu dilakukan melalui pengukuran nilai absorbansi sampel pada λ maks standar yang telah didapatkan, yakni 224 nm. Nilai absorbansi yang didapatkan bergantung pada kadar sibutramin HCl dalam sampel. Apabila sampel memiliki banyak kandungan sibutramin HCl, maka nilai absorbansi akan semakin besar begitu pula sebaliknya. Hal ini disebabkan oleh banyaknya molekul sibutramin HCl yang terabsorpsi cahaya pada panjang gelombang 224 nm. Konsentrasi awal sampel sebesar 8000 ppm menghasilkan nilai absorbansi yang jauh dari rentang absorbansi kurva baku sibutramin HCl sehingga perlu dilakukan proses pengenceran menjadi 20 ppm. Pada prinsipnya, pengenceran dilakukan hanya untuk menambah pelarut sehingga jumlah zat sebelum dan sesudah pengenceran tetap sama (Hikmayanti & Utami, 2019). Dari 10 sampel yang telah dianalisis pada penelitian ini diperoleh 2 sampel yang positif terdapat kandungan sibutramin HCl, yaitu sampel A dan sampel B dengan masing-masing nilai rata-rata kadar sibutramin HCl sebesar $2,4377 \pm 0,0066\%$ b/b dan $1,0164 \pm 0,0114\%$ b/b. Berdasarkan **Tabel 3**, sampel A tidak memiliki label BPOM dan sampel B memiliki label BPOM namun tidak terdaftar pada laman web BPOM. Adanya label BPOM merupakan salah satu syarat penting dalam memenuhi kriteria keamanan yang telah ditetapkan. Namun, perlu diketahui bahwa adanya label BPOM dalam suatu produk dapat terbagi menjadi dua, yaitu label BPOM yang terdaftar dan label BPOM yang tidak terdaftar. Oleh karena itu, konsumen perlu memastikan bahwa label BPOM yang terdapat pada produk sediaan jamu sudah terdaftar secara resmi sehingga konsumen dapat lebih yakin bahwa produk yang digunakan telah terjamin mutu serta keamanannya.