

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Pengumpulan Sampel

Sampel yang digunakan sebanyak lima sampel jamu pegal linu cair dengan *range* harga Rp10.000 – Rp35.000 yang diambil dari lima pasar yang ada di Kabupaten Yogyakarta dengan kriteria yang telah ditentukan. Hasil penelusuran sampel seperti yang ditunjukkan pada **Tabel 2.**

Tabel 2. Identitas Sampel yang Digunakan Dalam Penelitian

Kabupaten Yogyakarta	Kode Sampel	Pasar	Keterangan
Kulon Progo	Sampel 1	Sentolo	Berlabel BPOM namun tidak terdaftar dalam web BPOM
Sleman	Sampel 2	Gamping	Tidak berlabel BPOM
Gunung Kidul	Sampel 3	Karangmojo	Berlabel BPOM namun tidak terdaftar dalam web BPOM
Bantul	Sampel 4	Bantul	Berlabel BPOM namun tidak terdaftar dalam web BPOM
Kota Yogyakarta	Sampel 5	Beringharjo	Tidak berlabel BPOM

2. Uji Organoleptis

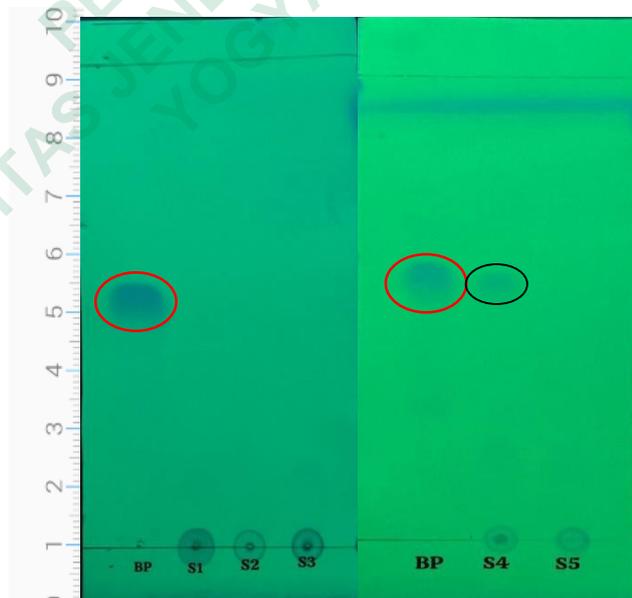
Uji organoleptis dikerjakan dengan pengamatan terhadap karakteristik misalnya bentuk, warna, dan aroma pada setiap sampel jamu pegal linu. Untuk hasil dari pengamatan uji organoleptis diketahui bahwa bentuk sediaan berupa cair dengan aroma khas jamu, namun pada sampel satu dan tiga tidak beraroma khas jamu (tidak adanya aroma rempah-rempah dari bahan tradisional yang digunakan) melainkan seperti aroma sabun, sedangkan untuk warna pada tiap sampel berbeda.

Hasil pengamatan organoleptis tersaji pada **Tabel 3**.

Sampel	Aroma	Bentuk sediaan	Warna
1	Tidak beraroma khas jamu	Cair	Hitam pekat
2	Khas jamu disertai daun <i>mint</i>		Coklat kehitaman
3	Tidak beraroma khas jamu		Hitam
4	Khas jamu		Coklat pekat
5	Khas jamu		Coklat

3. Analisis Kualitatif metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pengujian ini dilakukan melalui metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan menggunakan sampel jamu pegal linu cair sebanyak 5 sampel. Metode KLT bertujuan agar dapat diidentifikasi apakah terdapat tambahan bahan kimia obat (BKO) fenilbutazon ataupun tidak dalam sampel jamu. Pada uji ini fase diam yang digunakan yaitu berupa lempeng silika F254 (*Merck*). Sedangkan fase gerak yang digunakan yaitu campuran etil asetat serta n-heksan dengan perbandingan 1 : 4. Hasil uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ditunjukkan pada **Gambar 8**.



Gambar 8. Hasil Uji Kualitatif Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Sinar UV 254 nm Pada Sampel 1, 2, 3, 4, dan 5 dengan keterangan BP: Baku Pembanding; S: Sampel.

Berdasarkan hasil analisis terhadap lima sampel mengindikasikan bahwa satu sampel jamu yaitu pada sampel 4 yang diperoleh dari pasar

Bantul berpotensi mengandung Bahan Kimia Obat (BKO) fenilbutazon. Dugaan tersebut didasarkan pada perbedaan hasil Rf sampel = 0,69 dengan Rf baku pembanding = 0,7 yang tidak lebih dari 0,05. Menurut Oktavianari *et al.*, (2019) sampel dapat dikatakan positif jika memiliki perbedaan nilai Rf antara sampel dengan baku pembanding $\leq 0,05$. Selain itu, nilai Rf 0,69 menunjukkan bahwa sampel mampu memisahkan komponen senyawa melalui penggunaan fase gerak dalam rentang nilai Rf yang baik, yaitu 0,2-0,8 (Krishindardi *et al.*, 2023). Hasil perhitungan nilai Rf fenilbutazon standar dan sampel pada plat KLT disajikan dalam **Tabel 4**. Setelah diketahui sampel yang diduga positif selanjutnya dilakukan analisis kuantitatif menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

Tabel 4. Nilai Rf Pada Masing – masing Sampel Jamu

Sampel	Jarak Noda (cm)	Eluen (cm)	Nilai Rf	Keterangan
Standar fenilbutazon	5,9	8	0,7	+
Sampel 1	0	8	0	-
Sampel 2	0	8	0	-
Sampel 3	0	8	0	-
Sampel 4	5,5	8	0,69	+
Sampel 5	0	8	0	-

Keterangan: (-) tidak mengandung fenilbutazon; (+) mengandung fenilbutazon.

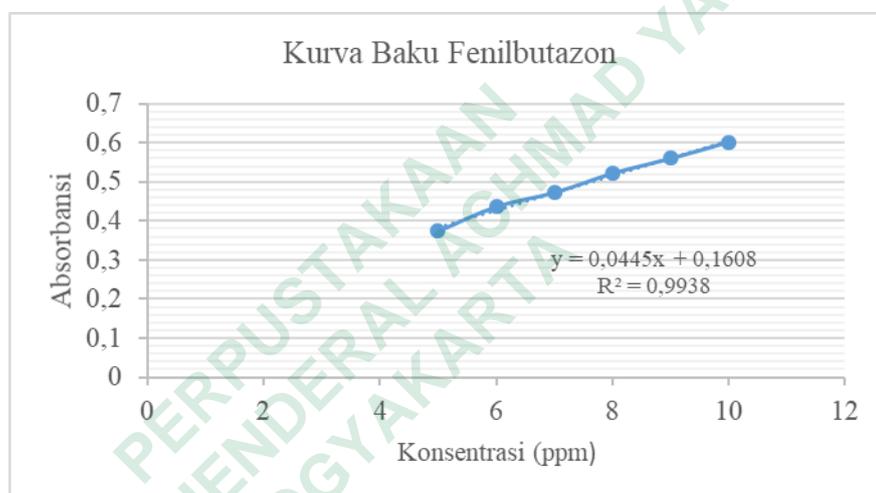
4. Analisis Kuantitatif menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

a. Penentuan panjang gelombang maksimum fenilbutazon

Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan agar dapat dipastikan absorbansi sampel berada dalam panjang gelombang maksimum sehingga diperoleh hasil yang maksimal (Anngela *et al.*, 2021). Hasil pengukuran menunjukkan bahwa panjang gelombang larutan baku standar fenilbutazon adalah 265 nm dengan nilai absorbansi 0,679 untuk konsentrasi 8 ppm. Panjang gelombang ini masih dapat diterima karena tidak melebihi rentang toleransi yang diperbolehkan sebesar ± 2 nm oleh Farmakope Indonesia IV, yaitu 264 nm (Depkes RI, 1995).

b. Kurva baku fenilbutazon

Berdasarkan penelitian, dilakukan pembuatan seri kadar kurva baku fenilbutazon menggunakan seri konsentrasi 5, 6, 7, 8, 9 dan 10 ppm. Selanjutnya hasil dari kurva baku ini kemudian diplotkan terhadap konsentrasi baku standar fenilbutazon (x) untuk membentuk garis lurus (linear) sehingga akan menghasilkan persamaan regresi linear. Hasil yang diperoleh dari persamaan regresi linear pada standar fenilbutazon disajikan pada **Gambar 9**.



Gambar 9. Kurva Baku Standar Fenilbutazon

Pada **Gambar 9**, Persamaan regresi linear yang diperoleh adalah $y = 0,0445 x + 0,1608$ dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9970. Selanjutnya membandingkan hasil nilai r hitung dengan r tabel yaitu $N = 4$, maka diperoleh r tabel 0,8114, yang menunjukkan bahwa persamaan regresi linear dapat digunakan dalam menentukan jumlah kadar fenilbutazon yang ditemukan dalam sampel.

c. Pengukuran kadar sampel

Analisis menggunakan teknik Kromatografi Lapis Tipis (KLT) mengungkapkan bahwa dari lima jamu yang menjadi sampel, satu diantara sampel terdeteksi positif mengandung BKO fenilbutazon. Tahap berikutnya uji kuantitatif menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 265 nm guna menentukan jumlah kadar fenilbutazon yang terkandung dalam

sampel jamu pegal linu. Perhitungan kadar fenilbutazon menggunakan persamaan garis pada kurva baku standar fenilbutazon yang telah diperoleh. Nilai kadar dari sampel 4 yang telah di uji disajikan dalam **Tabel 5**.

Tabel 5. Hasil Pengukuran Kadar Sampel

Sampel	Replikasi	Absorbansi	Kadar (%b/v)	$\bar{x} \pm LE$ (%b/v)	SD	CV (%)
4	1	0,446	0,213	0,228	0,013	5,701
	2	0,475	0,235	\pm		
	3	0,476	0,236	0,03230		

Dari tabel tersebut terlihat bahwa nilai absorbansi pada replikasi 1 sedikit berbeda dengan replikasi 2 dan 3. Salah satu faktor yang menyebabkan hal ini, yaitu kesalahan teknik menggunakan pipet pada saat pengambilan sampel. Namun, berdasarkan nilai CV pada penelitian ini masih memenuhi syarat karena nilai CV yang baik berada pada rentang 5-9 % (Jumiana *et al.*, 2018). Hasil pengukuran kadar pada sampel 4 menunjukkan nilai rata-rata kadar fenilbutazon, yaitu sebesar $0,228 \pm 0,03230$ %b/v dengan nilai SD 0,013 dan hasil CV sebesar 5,701%.

B. Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan identifikasi Bahan Kimia Obat (BKO) fenilbutazon yang terkandung dalam jamu pegal linu cair dengan merek berbeda yang beredar di pasar yang ada di Kabupaten Yogyakarta, yaitu Kulon Progo, Sleman, Gunung Kidul, Bantul, dan Kota Yogyakarta. Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini yaitu dengan metode *purposive sampling*, yang mengacu pada pengambilan sampel menggunakan pertimbangan atau kriteria tertentu (Chan *et al.*, 2020). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berupa jamu pegal linu tanpa label BPOM dan juga berlabel BPOM namun tidak terdaftar dalam laman web BPOM. Berdasarkan hal tersebut, diperoleh masing-masing dari lima pasar terbesar yang ada di Kabupaten Yogyakarta sebanyak 1 sampel dari pasar Sentolo (Kulon Progo), pasar Gamping (Sleman), pasar Karangmojo (Gunung Kidul), pasar Bantul (Bantul), dan dari pasar Beringharjo (Kota Yogyakarta) sehingga total sampel

adalah 5. Masing-masing sampel kemudian diberi label sampel 1, sampel 2, sampel 3, sampel 4, dan juga sampel 5. Pemberian label ini berguna untuk mempermudah peneliti dalam melaksanakan penelitian. Langkah pertama yang dilakukan yaitu uji organoleptis yang dilakukan untuk melihat bentuk tampilan fisik sediaan, warna, dan juga bau dari sampel yang diuji. Selain itu, uji organoleptis dilakukan untuk menjamin kebenaran dari simplisia penyusun dalam sediaan jamu (Mulkin *et al.*, 2020). Untuk hasil pada uji ini yaitu sediaan jamu berbentuk cair, mempunyai warna yang berbeda tiap sampel jamu, dan juga aroma yang berbeda yang terletak pada sampel 1 dan 3 dikarenakan tidak memiliki aroma khas jamu ataupun daun *mint* yang biasanya disebabkan oleh berbagai macam proses pengolahan yang telah dilakukan sehingga mengurangi aroma asli dari bahan yang digunakan. Berdasarkan hasil uji organoleptis dapat diketahui bahwa terdapat dugaan sampel yang memiliki kandungan Bahan Kimia Obat (BKO), yaitu sampel 1 dan 3.

Selanjutnya setelah dilakukan uji organoleptis, dilakukan preparasi sampel untuk uji kualitatif. Tujuan dilakukannya preparasi sampel adalah untuk meminimalkan adanya pengotor yang akan mengganggu proses analisis dengan mengeliminasi komponen-komponen selain analit. Pada penelitian ini diketahui bahwa pada preparasi uji kualitatif dengan preparasi uji kuantitatif terdapat perbedaan yaitu pada proses preparasi uji kualitatif dilakukannya penguapan terlebih dahulu sedangkan preparasi uji kuantitatif tidak dilakukannya penguapan. Hal ini dilakukan untuk meminimalisir terjadinya kesalahan karena semakin banyak tahapan yang dilakukan maka kemungkinan besar terjadinya kesalahan (Jaya & Rusmalina, 2024). Pemilihan pelarut yang sesuai dalam preparasi sampel dapat mempengaruhi keakuratan hasil (Jaya & Rusmalina, 2024). Alasan memilih metanol *p.a* sebagai pelarut dalam proses preparasi uji kualitatif adalah karena metanol *p.a* memiliki titik didih lebih rendah ($64,7^{\circ}\text{C}$) dibanding etanol *p.a* ($78,3^{\circ}\text{C}$) sehingga dapat mempercepat proses penguapan (Yanti *et al.*, 2019). Untuk pembuatan larutan uji dilakukan dengan cara sampel dilarutkan ke dalam metanol *p.a* lalu disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm untuk memisahkan partikel yang terlarut dan tidak terlarut dari sampel. Ekstrak yang diperoleh disaring lalu diuapkan hingga memperoleh ekstrak kental. Setelah dilakukan proses ekstraksi

dilakukan uji kualitatif menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis.

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode untuk memisahkan campuran analit dengan cara mengelusi analit melalui lempeng kromatografi. Prinsip kerja dari KLT adalah pemisahan campuran berdasarkan pergerakan pelarut melalui permukaan datar. Unsur-unsur dalam campuran akan berpindah atau bergerak dengan laju yang bervariasi, bergantung pada beberapa faktor seperti: tingkat kelarutan, adsorpsi, ukuran molekul, muatan dan juga proses elusi (Pebe, 2022). Dalam penelitian ini, fase gerak yang yaitu campuran etil asetat dan n-heksan dengan perbandingan (1:4). Penggunaan kedua pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu polar dan non-polar. Pelarut etil asetat bersifat polar sedangkan pelarut n-heksan memiliki sifat non polar sehingga dengan perbandingan 1:4, maka sifat dari fase gerak cenderung non polar. Fase diam yang digunakan yaitu plat silika gel F254 yang mampu menghasilkan fluoresensi pada panjang gelombang 254 nm karena adanya gugus kromofor. Gugus kromofor adalah gugus fungsional yang mengabsorpsi radiasi UV-Vis jika berikatan dengan aoksokrom atau gugus fungsi yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi (Indriasari, 2021). Pada panjang gelombang 254 nm gugus kromofor akan menunjukkan noda yang berwarna gelap, sedangkan pada panjang gelombang 366 nm gugus kromofor menghasilkan bercak yang berfluoresensi. Selain itu, silika gel F254 juga memiliki sifat relatif polar, terdapat kandungan silika, dan indikator fluoresen yang bisa berfluoresensi (Fikamilia & Mita, 2020). Berdasarkan struktur fenilbutazon memiliki dua gugus kromofor sehingga ketika terdapat fenilbutazon pada sampel, maka fenilbutazon akan mengalami fluoresensi di panjang gelombang 254 pada plat KLT. Dengan menggunakan fase gerak dan fase diam tersebut, diharapkan pemisahan fenilbutazon dapat memberikan nilai R_f yang baik ketika ditotolkan pada lempeng plat KLT (Mahdalena *et al.*, 2022).

Selanjutnya, sebelum digunakan plat silika F254 diaktivasi terlebih dahulu yang tujuannya agar dapat menghilangkan kelembaban air yang teradsorpsi pada plat silika F254 (Mahdalena *et al.*, 2022). *Chamber* dijenuhkan dengan menggunakan kertas saring, proses penjenuhan bertujuan agar uap dari larutan eluen dapat tersebar secara merata di semua bagian *chamber* agar proses pergerakan bercak

dapat berjalan secara optimal (Syamsul *et al.*, 2018). Plat silika F254 yang telah diaktifkan kemudian dilakukan penotolan larutan sampel jamu 1, 2, 3, 4, dan juga 5 dengan masing-masing konsentrasi sebesar 706.870 ppm; 379.380 ppm; 583.240 ppm; 287.280 ppm; 608.050 ppm. Perhitungan jumlah konsentrasi disajikan dalam **Lampiran 4, Hal 45** dan larutan baku pembanding fenilbutazon dengan konsentrasi 1000 ppm pada **Lampiran 5, Hal 48**. Penotolan antar sampel menggunakan *white tip* dengan jarak 1 cm sedangkan tepi bawah dan atas plat dilakukan pada jarak 2 cm untuk mencegah interaksi langsung antara fase gerak dan sampel. Jarak yang terlalu dekat atau penggunaan fase gerak yang berlebihan dapat menyebabkan bercak penotolan bersentuhan langsung dengan fase gerak, mengakibatkan sebagian molekul sampel dapat larut dalam fase gerak. Kondisi tersebut berpotensi mengakibatkan tidak valid pada hasil proses elusi. Selain itu, penotolan yang terlalu besar juga dapat menurunkan resolusi (Fikamilia & Mita, 2020).

Pada analisis kualitatif Kromatografi Lapis Tipis ini menggunakan nilai Rf sebagai parameter. Nilai Rf (*Retention factor*) adalah rasio antara jarak yang ditempuh oleh senyawa pada permukaan fase diam dan jarak yang di tempuh oleh pelarut sebagai fase gerak. Nilai Rf dipengaruhi oleh sifat eluen yang digunakan dan karakteristik senyawa yang dipisahkan. Nilai Rf yang berada dalam rentang 0,2 – 0,8 dapat digunakan sebagai bukti yang baik dalam identifikasi senyawa (Darmawansyah *et al.*, 2023). Dari hasil uji metode KLT ditemukan bahwa pada sampel jamu 4 terdapat satu bercak yang sejajar dengan baku pembanding fenilbutazon sehingga sampel tersebut dapat dikatakan memiliki kandungan BKO fenilbutazon, dengan hasil nilai Rf 0,69 yang menunjukkan bahwa nilai Rf tersebut memenuhi kriteria yang baik (**Gambar 8 dan Tabel 4**).

Setelah mendapatkan sampel yang dicurigai positif langkah selanjutnya dianalisis secara kuantitatif menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Pada analisis kuantitatif, langkah pertama adalah menentukan panjang gelombang maksimum pada baku pembanding fenilbutazon agar dapat mencapai absorbansi yang optimal. Berdasarkan hasil yang diperoleh panjang gelombang yang didapat adalah 265 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,679 pada konsentrasi 8 ppm. Panjang gelombang ini tidak berbeda dengan yang tercantum pada Farmakope

Indonesia IV yaitu 264 nm, yang mana panjang gelombang tersebut tidak lebih dari 2 nm (Depkes RI, 1995). Setelah didapatkan panjang gelombang maksimum, selanjutnya ialah dilakukan penetapan kurva baku standar fenilbutazon.

Pengukuran kurva baku standar fenilbutazon bertujuan untuk menghitung jumlah kadar fenilbutazon yang ada di dalam sampel jamu pegal linu cair berdasarkan serapan yang diperoleh melalui persamaan kurva baku standar fenilbutazon yang telah diperoleh. Hasil pengukuran dari kurva baku standar fenilbutazon ini disajikan pada **Lampiran 5, Hal 48** dengan persamaan garis yang diperoleh yaitu $y = 0,0445x + 0,1608$ dan koefisien korelasi (r) = 0,9970. Apabila hubungan antara dua variabel atau lebih itu mempunyai koefisien korelasi = 1 atau = -1, maka hubungan tersebut sempurna (Sanny & Dewi, 2020). Selain itu, hal tersebut juga sesuai dengan Hukum *Lambert – Beer* yang menyatakan adanya hubungan absorbansi yang linear terhadap konsentrasi larutan sampel. Semakin besar konsentrasi dalam larutan standar, maka semakin besar nilai absorbansinya (Fadhilah *et al.*, 2022). Persamaan regresi linear tersebut kemudian digunakan untuk menghitung kadar fenilbutazon pada satu sampel jamu cair yang secara kualitatif dikatakan positif. Dalam uji kuantitatif ini terdapat kendala berupa nilai absorbansi yang tidak stabil (naik turun) dalam waktu singkat sehingga menghasilkan jarak nilai absorbansi yang berdekatan, hal ini kemungkinan disebabkan karena fenilbutazon memiliki sifat sensitivitas yang tinggi dalam suhu ruang, maka dari itu untuk penggunaan fenilbutazon harus sesuai dengan petunjuk CoA (*Certificate of Analysis*) dan perlu dilakukannya validasi untuk menjamin bahwa metode analisis yang digunakan akurat dan spesifik.

Selanjutnya menentukan jumlah kadar fenilbutazon pada sampel jamu pegal linu cair dengan cara mencari nilai absorbansi pada panjang gelombang 265 nm. Dapat diketahui bahwa dari 5 sampel jamu pegal linu yang telah diuji pada penelitian ini terdapat satu sampel yang positif yaitu pada sampel 4 dengan nilai CV sebesar 5,701% dan untuk nilai rata-rata kadar sebesar $0,228 \pm 0,03230$ %b/v. Kendala yang menyebabkan nilai CV besar ialah karena hasil absorbansi dari replikasi satu sedikit berbeda dengan absorbansi dua dan tiga, hal ini dikarenakan sifat sensitivitas yang tinggi sehingga absorbansi dapat berubah-ubah setiap waktu.

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sholikha & Anggraini, (2016) yang berada di daerah Cibubur, Jakarta Timur ditemukan sebanyak 3 dari 5 sampel jamu pegal linu positif mengandung Bahan Kimia Obat (BKO) fenilbutazon. Pada penelitian lain di Gorontalo diperoleh sebanyak 4 dari 6 sampel yang positif mengandung Bahan Kimia Obat fenilbutazon (Taupik *et al.*, 2020). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dan penelitian-penelitian sebelumnya bahwa jamu pegal linu cair yang beredar dipasaran masih banyak yang mengandung BKO fenilbutazon. Dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia (Permenkes) Nomor 006 Tahun 2012 menyatakan jamu dilarang mengandung BKO. Sehingga perlu dilakukan edukasi lebih lanjut kepada masyarakat untuk lebih teliti dalam memilih jamu serta kepada produsen jamu untuk tidak melakukan tindakan curang serta mematuhi Cara Pembuatan Obat Tradisional yang baik.

PERPUSTAKAAN
JENDERAL ACHMAD YANI
UNIVERSITAS YOGYAKARTA