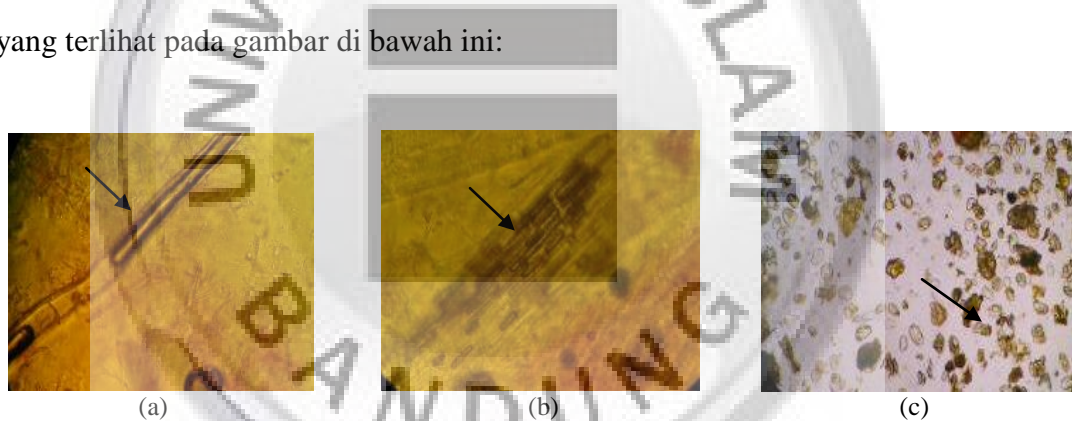


BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

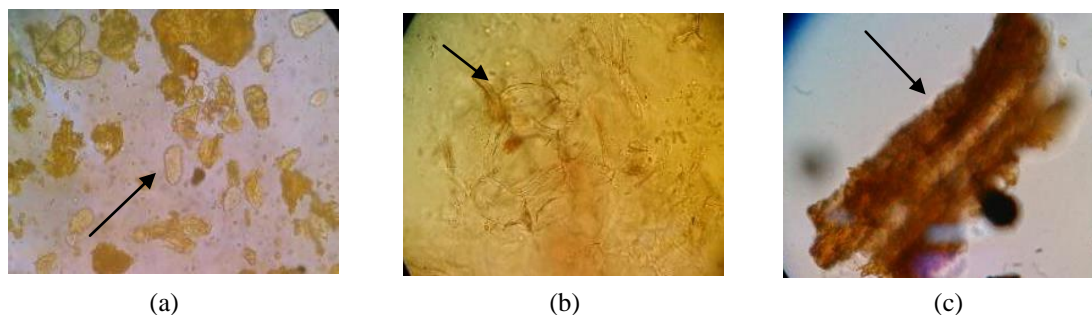
5.1 Pemeriksaan Mikroskopik Simplisia

Berdasarkan komposisi yang terdapat pada kemasan beberapa merk jamu pegal linu, maka pada penelitian ini jamu simulasi yang digunakan terdiri dari *Curcumae xanthorrhizae rhizoma*, *Curcumae domesticae rhizoma*, dan *Zingiberis officinalis rhizoma*. Hasil pemeriksaan mikroskopik yang dilakukan, menunjukkan adanya beberapa fragmen penanda untuk setiap simplisia, seperti yang terlihat pada gambar di bawah ini:



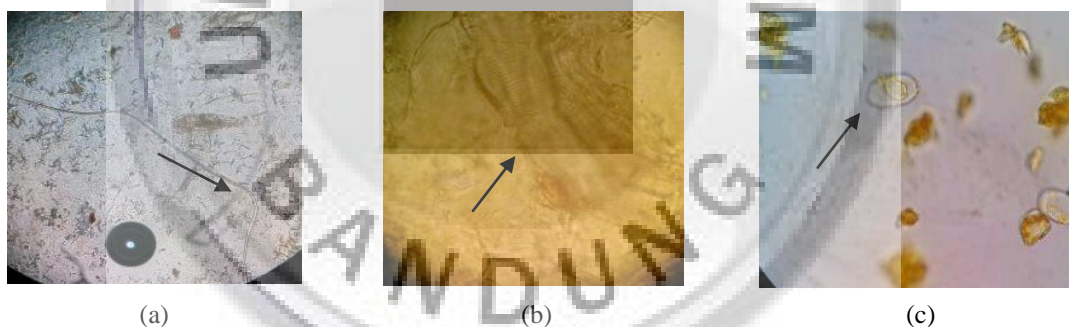
Gambar V.1 Pemeriksaan mikroskopik fragmen penanda simplisia *Curcumae domesticae rhizoma*, (a) trikomata, (b) berkas pengangkut, (c) amilum. Dilihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 x pereaksi kloral hidrat.

Gambar V.1 menunjukkan fragmen penanda pada *Curcumae domesticae rhizoma* yaitu (a) trikomata, (b) berkas pengangkut dan (c) amilum. Semua dilihat dibawah mikroskop pada perbesaran 400 x dengan pereaksi kloral hidrat.



Gambar V.2 Pemeriksaan mikroskopik fragmen penanda simplisia *Curcumae xanthorrhizae rhizoma*, (a) amilum, (b) parenkim korteks, (c) berkas pengangkut, perbesaran 400 x.

Gambar V.2 menunjukkan fragmen penanda pada *Curcumae xanthorrhizae rhizoma* yaitu (a) amilum yang diuji menggunakan larutan gliserin, sedangkan (b) parenkim korteks dan (c) berkas pengangkut diuji menggunakan pereaksi kloral hidrat.



Gambar V.3 Pemeriksaan mikroskopik fragmen penanda simplisia *Zingiberis officinalis rhizoma*, (a) serabut, (b) pembuluh kayu, (c) amilum, perbesaran 400 x.

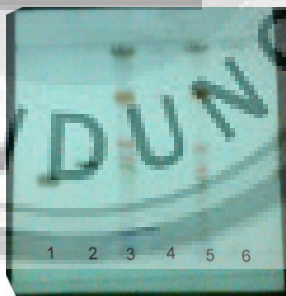
Gambar V.3 menunjukkan fragmen penanda pada *Curcumae xanthorrhizae rhizoma* yaitu (a) serabut dan (b) pembuluh kayu diuji dengan pereaksi kloral hidrat, sedangkan (c) amilum yang diuji menggunakan larutan gliserin. Hasil pemeriksaan mikroskopik simplisia yang diperoleh sesuai dengan fragmen penanda yang tercantum pada Farmakope Herbal Indonesia tahun 2008.

5.2 Hasil Optimasi Ekstraksi Fase Padat

Optimasi dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan kondisi ekstraksi yang paling baik. Sistem ekstraksi fase padat yang dipakai dalam penelitian ini adalah tipe fase balik. Fasa diam yang digunakan yaitu C-18 yang merupakan sorbent *universal* tipe *reversed phase*, sehingga dimungkinkan dapat menjerap parasetamol dan deksametason yang bersifat semi polar. Bentuk *cartridge* dipilih karena pemakaian sampel yang sedikit dan konsentrasi matriks yang terbawa cukup rendah.

5.2.1 Hasil optimasi EFP I

Pada pengujian yang pertama, jamu simulasi dilarutkan dalam metanol. Digunakan pelarut metanol karena berdasarkan orientasi, dalam jumlah yang digunakan parasetamol dan deksametason masih dapat larut dalam metanol. Hasil yang didapat dari pemantauan KLT dapat dilihat pada gambar V.4.

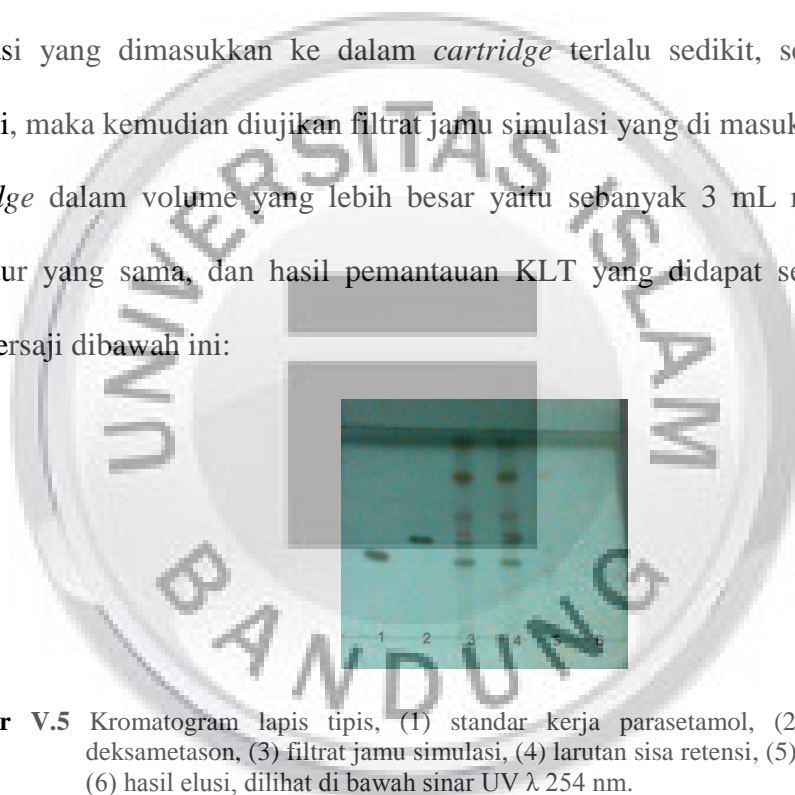


Gambar V.4 Kromatogram lapis tipis, (1) standar kerja parasetamol, (2) standar kerja deksametason, (3) filtrat jamu simulasi, (4) larutan sisa retensi, (5) larutan pencuci, (6) hasil elusi, dilihat di bawah sinar UV λ 254 nm.

Untuk mengetahui ada atau tidaknya parasetamol dan deksametason, bercak yang timbul pada larutan hasil EFP dibandingkan dengan bercak standar kerja parasetamol dan deksametason. Dari kromatogram diatas menunjukkan bahwa parasetamol dan deksametason sudah dapat teretensi (tertahan) pada

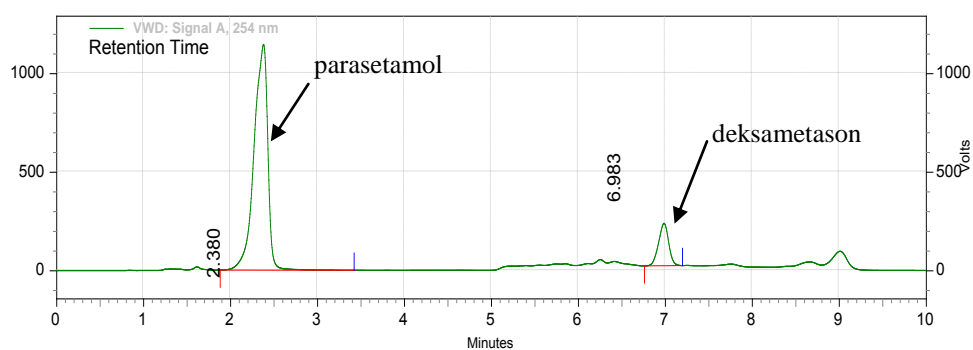
penjerap. Filtrat jamu simulasi yang di masukkan ke dalam *cartridge* sebanyak 1 mL. Tetapi dalam larutan hasil pencucian masih terdapat parasetamol. Sedangkan dalam larutan hasil elusi tidak ada sama sekali parasetamol dan deksametason yang terelusi.

Retensi analit pada EFP salah satunya tergantung pada konsentrasi sampel yang diretensi (Gandjar, 2012). Karena dikhawatirkan volume filtrat jamu simulasi yang dimasukkan ke dalam *cartridge* terlalu sedikit, sehingga tidak terelusi, maka kemudian diujikan filtrat jamu simulasi yang di masukkan ke dalam *cartridge* dalam volume yang lebih besar yaitu sebanyak 3 mL masih dengan prosedur yang sama, dan hasil pemantauan KLT yang didapat seperti gambar yang tersaji dibawah ini:

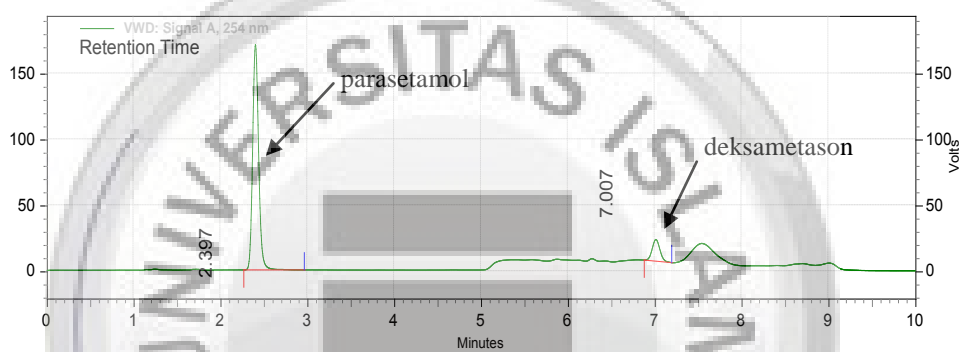


Gambar V.5 Kromatogram lapis tipis, (1) standar kerja parasetamol, (2) standar kerja deksametason, (3) filtrat jamu simulasi, (4) larutan sisa retensi, (5) larutan pencuci, (6) hasil elusi, dilihat di bawah sinar UV λ 254 nm.

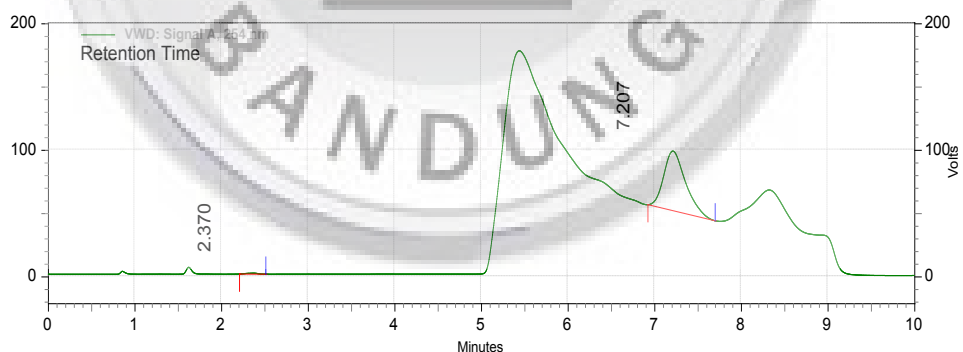
Kromatogram diatas menunjukkan bahwa parasetamol, deksametason, serta matriks-matriks pada jamu simulasi kurang teretensi pada sorbent dimungkinkan karena volume sampel yang dimasukkan ke dalam *cartridge* terlalu besar. Hal ini juga diperjelas pada kromatogram hasil KCKT, seperti yang tersaji dibawah ini:



Gambar V.6 Kromatogram larutan sisa retensi sampel optimasi I



Gambar V.7 Kromatogram larutan hasil pencucian optimasi I



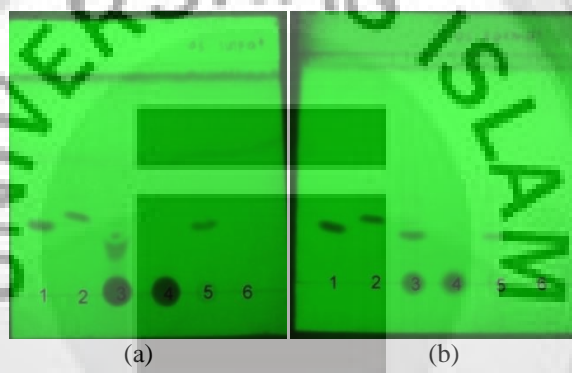
Gambar V.8 Kromatogram larutan hasil elusi optimasi I

Kromatogram hasil KCKT menunjukkan bahwa parasetamol dan deksametason kurang teretensi di fasa diam EFP dan pada saat pencucian pun ikut keluar sehingga pada larutan hasil elusi sudah tidak terdapat parasetamol dan deksametason. Hal ini menunjukkan bahwa hasil pengujian dengan KCKT selaras

dengan hasil pengujian dengan KLT dan membuktikan pengujian dengan pelarut metanol kurang baik sehingga perlu dicari eluen lain yang sesuai.

5.2.2 Hasil optimasi EFP II

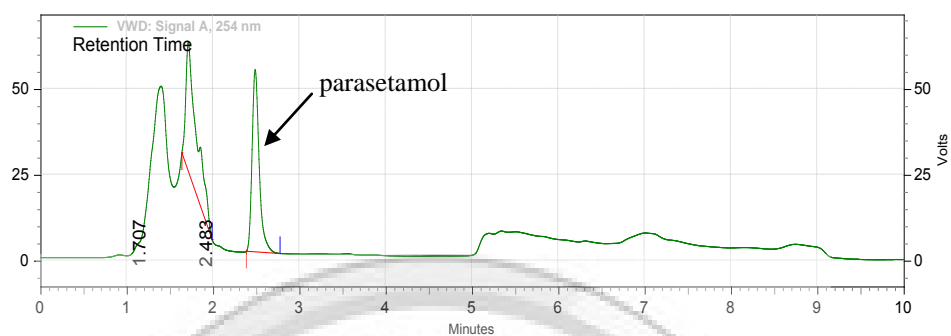
Selanjutnya dilakukan pengujian dengan larutan asam sulfat 2,5% dalam air dan asam format 2,5% dalam air. Pengocokan dengan *shaker* dilakukan dengan tujuan agar parasetamol dan deksametason dapat lebih banyak terlarut dalam pelarut. Setelah selesai EFP, dilakukan pemantauan dengan KLT dan hasilnya seperti yang tersaji di bawah ini:



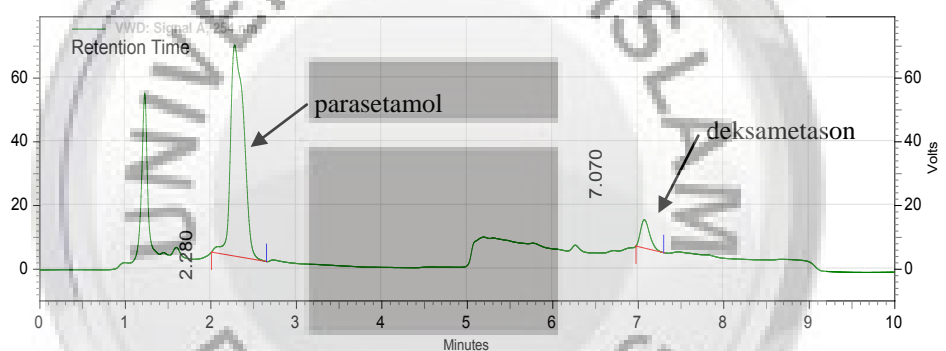
Gambar V.9 Kromatogram lapis tipis, (a) diasamkan dengan asam sulfat 2,5% dalam air, (b) diasamkan dengan asam format 2,5% dalam air, (1) standar kerja parasetamol (2) standar kerja deksametason, (3) filtrat jamu simulasi, (4) larutan sisa retensi, (5) larutan pencuci, (6) hasil elusi, dilihat di bawah sinar UV λ 254 nm.

Berdasarkan kromatogram hasil pemantauan KLT terlihat bahwa dengan penambahan asam, pada filtrat jamu simulasi tidak terlihat adanya bercak kurkumin. Kelarutan kurkumin berkurang pada pH asam. Parasetamol dan deksametason dalam suasana asam dapat teretensi dengan baik dalam *cartridge* C-18, namun parasetamol masih terbawa oleh larutan pencuci. Ekstraksi jamu dengan menggunakan asam format lebih baik, karena bercak parasetamol yang dihasilkan terpisah dengan baik (tidak berekor), sehingga untuk selanjutnya pengujian akan menggunakan asam format 2,5% dalam aquades sebagai pelarut

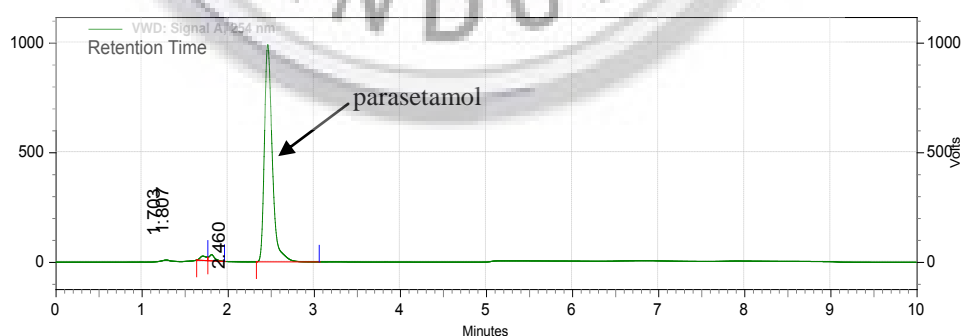
jamu simulasi. Hasil kromatogram KCKT untuk pengasaman dengan asam format dapat dilihat pada kromatogram di bawah ini:



Gambar V.10 Kromatogram larutan sisa retensi optimasi II



Gambar V.11 Kromatogram larutan hasil pencucian optimasi II



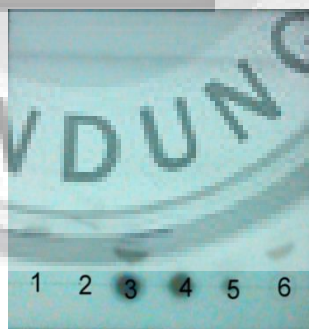
Gambar V.12 Kromatogram larutan hasil elusi optimasi II

Dari hasil pengujian dengan KCKT, larutan sisa retensi jamu simulasi terdapat puncak parasetamol tetapi dalam jumlah sedikit. Ketika pemantauan dengan KLT parasetamol pada larutan sisa retensi jamu simulasi tidak terdeteksi,

hal ini dikarenakan KCKT memiliki sensitifitas yang lebih tinggi daripada KLT. Pada kromatogram larutan pencuci terbukti terdapat puncak yang diduga parasetamol. Karena larutan pencuci menggunakan aquades, dengan sifat parasetamol yang semi polar maka parasetamol terlarut dalam aquades sebagai larutan pencuci. Pada larutan hasil elusi terdapat puncak parasetamol. Hal ini tidak sesuai dengan hasil KLT. Larutan pengelusi digunakan basa lemah yaitu NH_4OH dimaksudkan agar parasetamol dapat bereaksi dan menjadi garam yang dapat larut dalam pelarut polar seperti metanol.

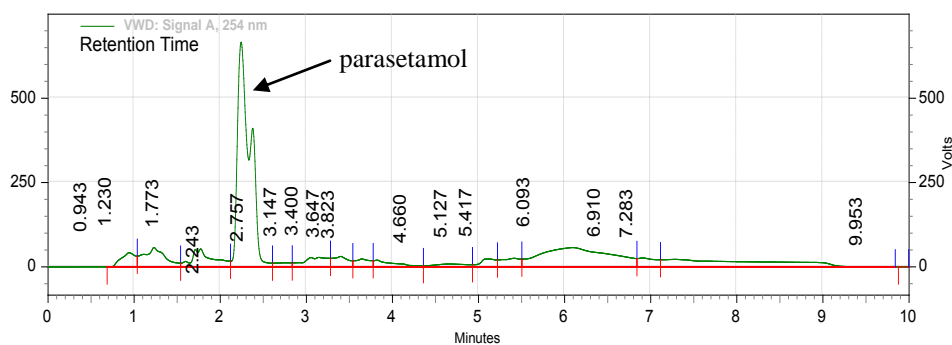
5.2.3 Hasil optimasi EFP III

Pada optimasi selanjutnya, jamu ditambahkan dengan asam format 5% dalam air, hal ini dimaksudkan dengan bertambahnya konsentrasi asam, maka parasetamol dapat tertahan dalam fasa diam lebih lama. Dari pemantauan KLT, didapat hasil sebagai berikut:



Gambar V.13 Kromatogram lapis tipis, (1) standar kerja parasetamol (2) standar kerja deksametason, (3)filtrat jamu simulasi, (4) larutan sisa retensi, (5) larutan pencuci, (6) hasil elusi, dilihat di bawah sinar UV λ 254 nm.

Hasil diatas menunjukkan bahwa pelarutan jamu simulasi dengan asam format 5% dalam air tidak lebih baik dibandingkan dengan pelarutan dengan asam format 2,5% dalam air. Hasil ini diperkuat dengan kromatogram hasil KCKT, yang dapat dilihat pada kromatogram di bawah ini:



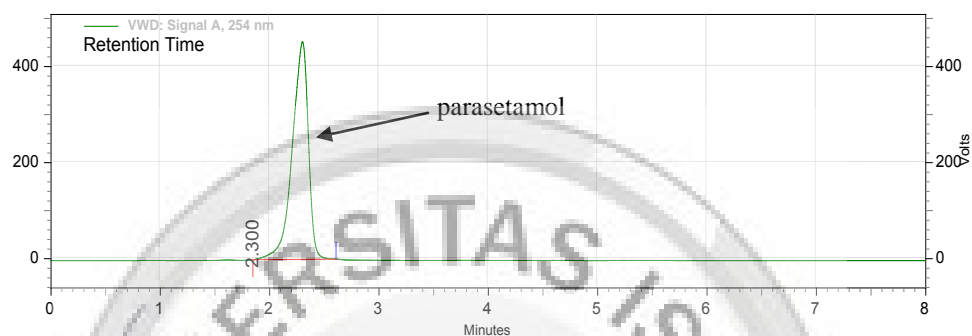
Gambar V.14 Kromatogram larutan hasil elusi optimasi III

Kromatogram hasil KCKT memperlihatkan bahwa parasetamol yang terdapat pada larutan hasil elusi dengan pelarut asam format 5% dalam air lebih sedikit dibandingkan dengan parasetamol yang terdapat pada larutan hasil elusi dengan pelarut asam format 2,5% dalam air. Maka asam format 2,5% lebih baik untuk meretensi parasetamol dalam fasa diam.

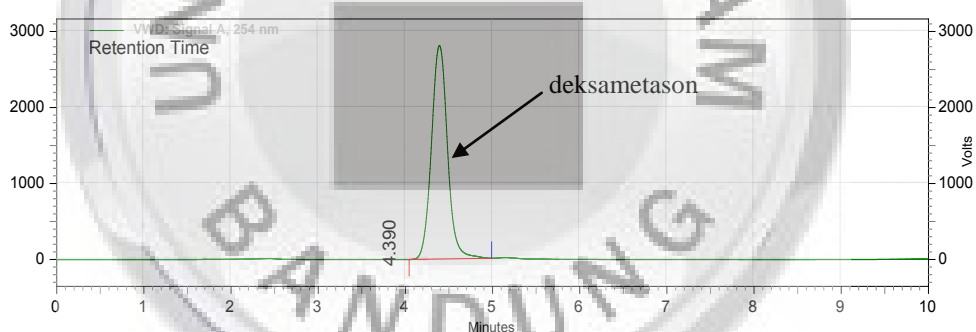
5.3 Optimasi Sistem KCKT

Pada penelitian ini dilakukan optimasi sistem KCKT untuk mengetahui fase gerak yang sesuai untuk analisis parasetamol dan deksametason secara simultan. Fase gerak yang digunakan yaitu antara aquabides-metanol dengan perbandingan yang berbeda-beda, yaitu 25:75, 75:25, 65:35, 40:60, 70:30, tipe elusi isokratik, dengan laju alir 1,5 mL/menit, detektor sinar uv 254 nm, dan kolom yang digunakan adalah kolom zorbax ODS 4,6 mm ID x 250 mm. Hasil yang diperoleh dari sistem yang diujikan menghasilkan puncak parasetamol dan deksametason yang baik tetapi dalam perbandingan fase gerak yang berbeda. Parasetamol memberikan puncak yang baik pada menit ke 2,300 dengan perbandingan fase gerak aquabides-metanol (60:40), sedangkan deksametason

memberikan puncak yang baik pada menit ke 4,390 dengan perbandingan fase gerak aquabides-metanol (25:75). Maka diujikan laju elusi gradien agar parasetamol dan deksametason dapat keluar secara simultan dengan resolusi yang baik. Kromatogram hasil analisis dengan KCKT, tersaji sebagai berikut:



Gambar V.15 Kromatogram parasetamol, komposisi eluen aquabides-metanol (60:40)



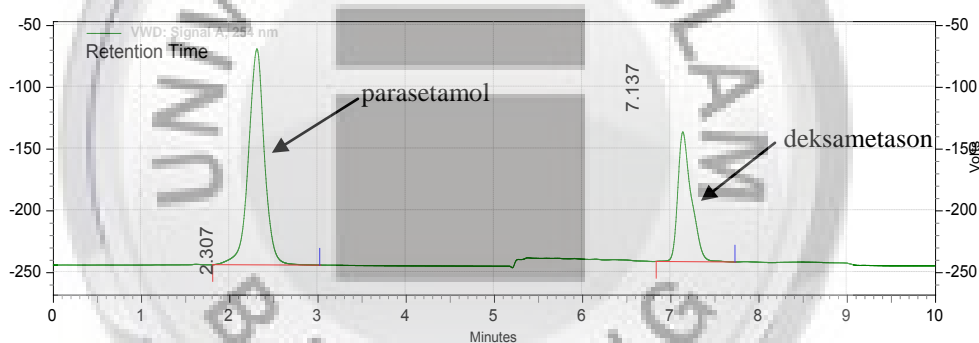
Gambar V.16 Kromatogram deksametason, komposisi eluen aquabides-metanol (25:75)

Fase gerak gradien diujikan dengan perbandingan seperti tabel dibawah ini:

Tabel V.1 Perbandingan eluen tipe elusi gradien

waktu	komposisi eluen (aquabides : metanol)
0 - 3	60 : 40
3,01 - 7	25 : 75
7,01 - 10	60 : 40

Waktu retensi ditentukan selama 10 menit karena apabila lebih dari 10 menit akan membutuhkan banyak waktu yang dapat menghambat analisis, sedangkan jika kurang dari 10 menit, akan menghasilkan puncak parasetamol dan deksametason yang terlalu berdekatan. Berdasarkan pada gambar kromatogram dan waktu retensi yang diperoleh, maka dipilih perbandingan fase gerak antara aquabides-metanol dengan tipe elusi gradien. Pada gambar kromatogram yang didapat, menghasilkan puncak yang lancip dengan waktu retensi untuk parasetamol 2,307 sedangkan deksametason 7,137 dengan waktu retensi selama 10 menit.



Gambar V.17 Kromatogram hasil pengujian tipe elusi gradien

5.4 Uji Kesesuaian Sistem

Uji kesesuaian sistem dilakukan untuk menentukan bahwa sistem kromatografi beroperasi dengan baik atau tidak. Uji kesesuaian sistem dilakukan selama 3 hari berbeda. Dilakukan selama 3 hari berbeda bertujuan untuk mengukur keterulangan metode. Keterulangan adalah keseksamaan metode jika dilakukan berulang kali oleh analis yang sama pada kondisi sama dan dalam interval waktu yang pendek. Keseksamaan merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil

individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Harmita, 2004). Larutan standar campuran yang digunakan yaitu dengan konsentrasi 100 ppm dan diinjeksikan sebanyak 7 kali. Dari kromatogram kemudian dihitung simpangan baku residual (SBR) dari nilai luas area dan waktu retensi.

Berikut hasil perhitungan SBR luas area standar:

Tabel V.2 Hasil perhitungan UKS luas area standar

Uji kesesuaian sistem luas area standar						
Hari	Parasetamol			Deksametason		
	Rata-rata	SD	SBR (%)	Rata-rata	SD	SBR (%)
1	38053182	328763	0.864	14979159	258713	1.727
2	37853559	177380	0.469	19317868	196258	1.016
3	35235682	576013	1.635	15222914	165492	1.087

Sedangkan untuk perhitungan SBR waktu retensi standar hasilnya sebagai berikut:

Tabel V.3 Hasil perhitungan UKS waktu retensi standar

Uji kesesuaian sistem waktu retensi standar						
Hari	Parasetamol			Deksametason		
	Rata-rata	SD	SBR (%)	Rata-rata	SD	SBR (%)
1	2,404	0,019	0,828	7,061	0,056	0,789
2	2,361	0,007	0,316	6,914	0,041	0,596
3	2,382	0,007	0,291	7,005	0,026	0,369

Nilai SBR yang baik harus $\leq 2\%$, sehingga dapat disimpulkan bahwa nilai SBR yang didapat memenuhi syarat.