

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Obat tradisional

Obat tradisional merupakan bahan atau ramuan bahan yang berasal dari tumbuhan, hewan, mineral, sediaan galenik atau campuran dari bahan tersebut yang secara empiris sudah digunakan untuk pengobatan. Obat tradisional dibuat dengan pedoman CPOTB untuk menjamin agar mutu produk yang dihasilkan sesuai dengan persyaratan mutu obat tradisional yang baik (Kemenkes RI, 2012). Obat tradisional digunakan secara turun-temurun sebagai upaya pencegahan dan menjaga kesehatan oleh masyarakat Indonesia (Elfahmi *et al.*, 2014).

Obat tradisional dilarang dibuat dan diedarkan dalam bentuk sediaan intravaginal, tetes mata, parenteral, dan supositoria (kecuali obat wasir). Obat tradisional tidak boleh mengandung bahan kimia obat sintetik maupun hasil isolasi, narkotika-psikotropika, etil alkohol > 1%, serta bahan yang membahayakan kesehatan (Kemenkes RI, 2012). Informasi terkait penandaan/label pada obat tradisional perlu mencantumkan asal bahan tertentu, kandungan alkohol, dan batas kedaluwarsa (BPOM RI, 2010). Obat tradisional dikelompokkan dalam 3 golongan berdasarkan cara pembuatan serta jenis klaim penggunaan dan tingkat pembuktian khasiat, yaitu jamu, obat herbal terstandar (OHT), dan fitofarmaka (BPOM RI, 2004).

1.1. Jamu. Jamu merupakan salah satu resep obat tradisional peninggalan leluhur yang sampai saat ini masih berkembang hingga saat ini, serta dianggap memiliki efek samping minimal (Isnawati, 2021). Bentuk sediaan jamu diantaranya yaitu cairan, seduhan/serbuk, rebusan/rajan, dan bentuk kapsul/pil/tablet (Kemenkes RI, 2017). Berdasarkan Keputusan Kepala BPOM No. HK. 00.05.4.2411, logo golongan jamu berupa ranting daun dalam lingkaran yang dicetak dengan warna hijau dengan dasar warna putih atau warna lain yang kontras dengan warna logo. Penulisan “JAMU” jelas dan mudah dibaca, dicetak dengan warna hitam di atas dasar warna putih atau warna lain yang kontras dengan tulisan “JAMU”. Logo sediaan jamu adalah sebagai berikut:



Gambar 1. Logo jamu (BPOM RI, 2004).

Spesies yang termasuk dalam famili Zingiberaceae seperti *Curcuma*, *Zingiber*, *Kaempferia*, merupakan tumbuhan yang paling sering digunakan dalam jamu. Spesies ini juga telah dipelajari secara intensif untuk metabolit sekunder dan aktivitas biologisnya, kurkumin dan panduratin adalah contoh khas metabolit sekunder bioaktif dari spesies tanaman ini. Jamu yang umum beredar di kalangan masyarakat yaitu yang memiliki khasiat sebagai peningkat nafsu makan, mengontrol berat badan, peningkat stamina, membantu mengontrol gula darah, dan menghilangkan pegal linu (Elfahmi *et al.*, 2014). Jamu harus memenuhi kriteria yaitu aman sesuai dengan syarat yang ditetapkan, secara empiris klaim khasiat dapat dibuktikan, persyaratan mutu terpenuhi, klaim khasiat tidak boleh menggunakan istilah medis atau farmakologi (BPOM RI, 2004).

1.2. Obat Herbal Terstandar (OHT). OHT merupakan obat tradisional yang telah dilakukan standarisasi bahan baku untuk digunakan dalam produk jadi, serta perlu memenuhi persyaratan aman dan mutu sesuai dengan persyaratan yang berlaku, dan klaim khasiat dapat dibuktikan secara ilmiah/praklinik (Kemenkes RI, 2016). Logo OHT yaitu berupa “jari-jari daun (3 pasang) terletak dalam lingkaran”, dan ditempatkan pada bagian atas sebelah kiri wadah maupun brosur. Logo dicetak dengan warna hijau di atas warna putih atau warna lain yang kontras dengan warna logo. Penulisan “OBAT HERBAL TERSTANDAR” jelas dan mudah untuk dibaca, dicetak dengan warna hitam di atas dasar warna putih atau warna lain yang kontras dengan tulisan “OBAT HERBAL TERSTANDAR” (BPOM RI, 2004). Logo sediaan OHT adalah sebagai berikut :



Gambar 2. Logo OHT(BPOM RI, 2004).

1.3. Fitofarmaka. Fitofarmaka adalah sediaan obat tradisional yang telah dilakukan standardisasi, keamanan dan khasiatnya telah dilakukan pembuktian secara ilmiah melalui uji klinik (Kemenkes RI, 2016). Logo fitofarmaka berupa “jari-jari daun (membentuk bintang) terletak dalam lingkaran”, dan ditempatkan pada bagian atas sebelah kiri dari wadah atau brosur. Logo dicetak dengan warna hijau di atas dasar putih atau warna lain yang kontras dengan warna logo. Pemulisan “FITOFARMAKA” jelas dan mudah dibaca, dicetak dengan warna hitam di atas dasar warna putih atau warna lain yang kontras dengan tulisan “FITOFARMAKA” (BPOM RI, 2004). Logo sediaan fitofarmaka adalah sebagai berikut:



Gambar 3. Logo Fitofarmaka(BPOM RI, 2004).

2. Nyeri

Nyeri adalah perasaan sensorik dan emosional yang tidak menyenangkan menyertai kerusakan jaringan yang ada atau yang akan datang atau mengacu pada kerusakan tersebut. Penyebab nyeri adalah iritasi pada reseptor yang disebut nosiseptor. Nosiseptor adalah saraf bebas ujung yang menanggapi rangsangan yang menyakitkan. Nosiseptor dapat ditemukan di kulit, merupakan organ gerak (periosteum, kapsul sendi, ligamen, otot), kornea mata dan pulpa gigi. Nosiseptor juga berlimpah di meninges, pleura, peritoneum dan dinding organ. Nosiseptor dirangsang secara biologis, rangsang listrik, termal, mekanik, dan kimiawi untuk mengirimkan informasi ke otak. Ketika rangsangan ditransmisikan ke sumsum tulang belakang, kemudian ke daerah pusat otak, persepsi nyeri terjadi (Swieboda *et al.*, 2013).

Nyeri akut dan kronis dapat menghambat fungsi normal dan melaksanakan tugas sehari-hari. Nyeri akut dikaitkan dengan kejang otot rangka dan aktivasi sistem saraf simpatis, dipicu oleh penyakit atau cedera tertentu, sedangkan nyeri kronis dapat dianggap sebagai keadaan penyakit. Nyeri kronis menghasilkan rasa sakit yang bertahan lebih lama dari waktu normal penyembuhan, jika berhubungan dengan penyakit atau cedera (Swieboda *et al.*, 2013).

2.1. Pegal linu. Pegal linu merupakan suatu gejala penyakit akibat kondisi otot-otot tubuh dalam keadaan tegang (Kemenkes RI, 2022). Pegal linu atau rematik adalah penyakit degeneratif sehingga mengakibatkan kerusakan tulang dan sendi. Penyebab pegal linu bermacam-macam, yaitu cedera sendi yang berulang, osteoporosis, sendi menyangga beban terlalu berat, kegemukan, dan faktor usia dan genetik. Gejala klinis pegal linu yaitu nyeri disertai kemerahan di daerah sendi (Blegur *et al.*, 2022).

2.2. Nyeri haid. Nyeri haid (dismenore) merupakan nyeri yang terjadi selama siklus haid. Nyeri haid terdiri dari nyeri haid primer dan sekunder. Nyeri haid primer dapat terjadi selama beberapa bulan hingga tahun yang berkaitan dengan siklus ovulasi. Nyeri haid sekunder disebabkan karena keadaan patologis pelvik spesifik dan dapat terjadi setiap saat selama masa reproduksi pasien (Taber, 1984).

2.3. Nyeri sakit kepala. Sakit kepala merupakan kondisi dimana terjadi nyeri di kepala yang muncul bertahap atau mendadak. Berdasarkan penyebabnya terdapat 2 jenis sakit kepala, yaitu primer dan sekunder. Sakit kepala primer tidak diketahui penyebab yang mendasari. Sakit kepala sekunder adalah hasil dari yang lain kondisi yang menyebabkan traksi pada atau peradangan pada struktur yang peka terhadap rasa sakit. Sakit kepala primer yang paling umum terjadi diantaranya migrain, sakit kepala tipe tegang, dan sakit kepala kluster (Rizzoli dan Mullally, 2018).

3. Bahan kimia obat

Bahan Kimia Obat (BKO) merupakan senyawa sintesis yang umumnya digunakan dalam pengobatan modern yang ditambahkan ke dalam sediaan obat tradisional. BKO yang ditambahkan ke dalam obat tradisional umumnya dimaksudkan untuk menghilangkan gejala sakit dengan segera (seperti pada pegal linu). BKO yang umum digunakan merupakan golongan obat keras yang dapat menimbulkan efek samping ringan sampai berat seperti iritasi saluran pencernaan, kerusakan hati/ginjal, gangguan penglihatan, atau gangguan ritme irama jantung. Gangguan yang terjadi dapat bersifat sementara pada efek samping ringan. Pada efek samping berat, dapat terjadi kerusakan permanen pada jaringan/organ sampai kematian (BPOM RI, 2006).

4. Asam mefenamat

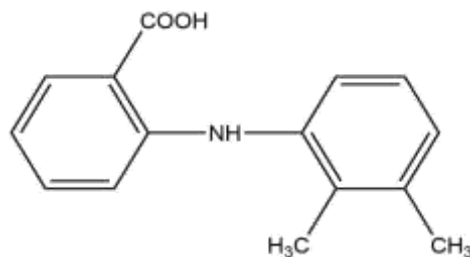
4.1. Pengertian asam mefenamat. Asam mefenamat (*mefenamic acid*) atau 2-[(2,3-dimethylphenyl)amino] *benzoic acid* merupakan derivat asam antranilat dan merupakan golongan obat antiinflamasi non steroid (OAINS) yang memiliki rumus molekul $C_{15}H_{15}NO_2$. Asam mefenamat digunakan untuk meredakan nyeri ringan sampai sedang, diantaranya untuk sakit kepala, sakit kepala, osteoarthritis dan rheumatoid arthritis. Asam mefenamat berperan sebagai analgesik, obat antirematik, obat antiinflamasi nonsteroid, antipiretik. Mekanisme kerja asam mefenamat yaitu dengan menghambat aktivitas enzim siklooksigenase, sehingga menghambat inflamasi (NCBI, 2022).

4.2. Sifat fisika-kimia asam mefenamat. Asam mefenamat memiliki pemerian berupa serbuk hablur berwarna putih, melebur pada suhu ± 230 °C. Asam mefenamat larut dalam alkali hidroksida, agak sukar larut dalam kloroform, sukar larut dalam metanol dan etanol, praktis tidak larut air (Kemenkes RI, 2020). Menurut USP (2013), klasifikasi kelarutan zat dalam pelarut adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Kelarutan zat per bagian pelarut (USP, 2013).

Deskripsi	Bagian pelarut yang digunakan per bagian zat terlarut
Sangat larut	< 1 bagian
Mudah larut	1-10 bagian
Larut	10-30 bagian
Agak sukar larut	30-100 bagian
Sukar larut	100-1.000 bagian
Sangat sukar larut	1.000-10.000 bagian
Praktis tidak larut	> 10.000 bagian

Asam mefenamat memiliki berat molekul sebesar 241,29. Asam mefenamat BPFI (Baku Pembandingan Farmakope Indonesia) tidak boleh dikeringkan, penyimpanan ditempatkan pada wadah tertutup rapat, dan terlindung cahaya (Kemenkes RI, 2020). Struktur kimia asam mefenamat dapat digambar menggunakan aplikasi *ChemDraw* 18.1 sebagai berikut:



Gambar 4. Struktur kimia asam mefenamat (Kemenkes RI, 2020).

5. Kromatografi lapis tipis (KLT)

5.1. Definisi KLT. KLT merupakan metode kromatografi paling sederhana dan umum digunakan, serta termasuk dalam golongan kromatografi planar. Identifikasi sampel pada KLT didasarkan pada nilai R_f (*Retention factor*) yang dibandingkan anatar standar dan sampel. Nilai R_f yang baik untuk analisis yaitu 0,2-0,8 (Wulandari, 2011). Tujuan penggunaan KLT diantaranya yaitu, mencari pelarut yang cocok untuk kromatografi kolom, menganalisis fraksi yang diperoleh dari hasil kromatografi kolom, monitoring jalannya reaksi kimia, dan identifikasi (Kristanti *et al.*, 2008).

5.2. Prinsip kerja KLT. Prinsip kerja KLT adalah adsorpsi, desorpsi, dan eluasi. Adsorpsi terjadi ketika larutan sampel ditotolkan ke fase diam, komponen dalam sampel akan terjerat di permukaan fase diam. Desorpsi merupakan peristiwa ketika komponen senyawa yang diadsorpsi di fase diam didesak oleh fase gerak (eluen), sehingga terdapat persaingan antara eluen dan komponen untuk berikatan dengan fase diam. Eluasi merupakan suatu peristiwa dimana komponen pada sampel ikut terbawa oleh eluen/fase gerak (Kamar *et al.*, 2021).

Mekanisme pemisahan yang terjadi yaitu akibat peristiwa kapilaritas dan solubilitas. Peristiwa kapilaritas terjadi karena adanya gerakan cairan akibat gaya adhesi, kohesi, dan tegangan permukaan, dimana cairan (fase gerak) dapat merambat pada fase diam ke atas karena gaya kapilaritas lebih besar dibanding gaya gravitasi yang menahannya. Peristiwa solubilitas terjadi karena kesamaan derajat polaritas, sehingga *solute* (zat terlarut) dapat terbawa *solvent* (pelarut) berdasarkan prinsip *like dissolve like* (Rubiyanto, 2017).

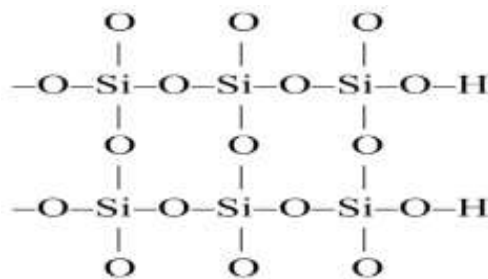
5.3. Komponen KLT. Komponen KLT diantaranya fase diam, fase gerak, dan sampel. Analisis KLT diawali dengan penotolan sampel pada batas bawah plat KLT, kemudian dikeringkan sebentar. Plat KLT yang sudah ditotolkan sampel dimasukkan ke dalam fase gerak yang telah dijenuhkan. Jika fase diam dan fase gerak dipilih dengan benar dan sesuai, campuran komponen-komponen sampel bermigrasi dengan kecepatan yang berbeda selama pergerakan fase gerak melalui fase diam (Wulandari, 2011). Lempeng KLT diambil dan dikeringkan ketika proses eluasi sudah mencapai batas atas plat KLT. Zona dari noda hasil proses eluasi yang dihasilkan selanjutnya dideteksi secara langsung (visual) atau di bawah sinar ultraviolet (UV) baik dengan atau tanpa penambahan pereaksi penampak noda yang cocok (Wulandari, 2011).

5.3.1. Fase diam KLT. Fase diam pada metode kromatografi lapis tipis yaitu berupa zat padat (Kristanti *et al.*, 2008). Fase diam KLT berupa lempeng yang memiliki berbagai jenis adsorben. Pemilihan fase diam didasarkan pada polaritas analit, kelarutan, kemampuan ionisasi, bobot molekul, bentuk dan ukuran analit sampel (Wulandari, 2011). Berikut merupakan beberapa contoh adsorben dan kegunaannya dalam analisis kualitatif:

Tabel 2. Jenis adsorben dan kegunaannya (Wulandari, 2011).

Adsorben	Kegunaan
Silika gel	Semua kelas senyawa
Alumunium oksida	Dasar senyawa (alkaloid, amina, dan lain-lain), steroid, terpen, hidrokarbon aromatik dan alifatik
Kieselghur	Karbohidrat, aflatoxin, herbisida, tetrasiklin
Poliamid	Fenol, steroid, dan senyawa nitro
Amino-terikat	Sangat baik untuk karbohidrat, asam sulfonat, fenol, asam karboksilat, nukleotida, dan nukleosida
Siano-terikat silika gel	Banyak kelas senyawa, terutama baik untuk pestisida, steroid, dan pengawet
Diol-terikat silika gel	Cocok untuk steroid dan hormone
Fase terbalik (RP2, RP8, RP 18) silika gel	Meningkatkan pemisahan untuk banyak kelas senyawa seperti steroid, hormone, tetrasiklin, antioksidan, lipid, barbiturate, capsaicin, aminofenol, asam lemak
Silika gel-kiral	Enantiomer asam amino, halogenasi, N-alkil, dan metil-amino-asam, peptide sederhana, asam hidroksikarboksilat
Silika gel diimpregnasi dengan perak nitrat	Lipid, termasuk variasi jenuh dan isomer geometric
Silika gel diimpregnasi dengan kafein	Selektif untuk hidrokarbon poliaromatik
Silika gel diimpregnasi dengan asam borat/ fosfat	Selektif untuk karbohidrat

Adsorben/sorben yang digunakan dalam fase diam KLT terdapat 2 jenis, yaitu yang berasal dari senyawa anorganik dan organik. Adsorben anorganik misalnya alumunium oksida (Al_2O_3), silikon oksida (SiO_2) magnesium karbonat (MgCO_3), kalsium karbonat (CaCO_3). Adsorben organik misalnya pati dan selulosa (Wulandari, 2011). Silika gel merupakan salah satu adsorben anorganik yang umum digunakan dalam peneletian laboratorium (Kristanti *et al.*, 2008). Silika gel memiliki nama lain asam silisik dan kieselgel. Silika gel memiliki material putih amorf berpori. Pembuatannya dilakukan dengan pengendapan larutan silikat dengan penambahan zat asam (Wulandari, 2011). Struktur kimia silika gel adalah sebagai berikut:



Gambar 5. Struktur kimia silika gel (Wulandari, 2011).

5.3.2. Fase gerak KLT. Fase gerak dapat terdiri dari 1 jenis pelarut maupun campuran 2-6 pelarut (Wulandari, 2011). Hal-hal yang perlu diperhatikan saat memilih fase gerak yaitu polaritas fase gerak dan polaritas senyawa pada sampel yang dianalisis, dimana fase gerak yang terlalu polar dapat mengeluarkan semua komponen polar dalam senyawa yang di analisis (Kristanti, 2008). Pengotor pada lempeng KLT bersifat hidrofil, sehingga penggunaan fase gerak polar akan menyebabkan pengotor pada lempeng KLT cenderung bermigrasi mengikuti fase gerak yang menyebabkan perolehan nilai R_f tinggi ($> 0,8$). Syarat fase gerak yang baik yaitu memiliki kemurnian yang cukup baik, stabil, viskositas rendah, partisi isothermal linier, tekanan uap yang sesuai (tidak terlalu rendah maupun terlalu tinggi), dan toksisitas rendah (Wulandari, 2011).

5.3.3. Sampel KLT. Sampel KLT terdiri dari beberapa jenis, yaitu sampel larutan jernih, sampel larutan keruh, sampel setengah padat, dan sampel padat. Preparasi sampel padat sendiri dilakukan dengan cara menyerbuk sampel kemudian di ekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai dengan pengocokan manual maupun menggunakan alat (seperti: vorteks dan *ultrasonic degaser*) (Wulandari, 2011).

Konsentrasi sampel yang digunakan untuk KLT harus tepat agar menghasilkan pemisahan yang baik, karena apabila konsentrasi sampel yang ditotolkan terlalu tinggi dapat menyebabkan *tailing* (Kristanti *et al.*, 2008).

5.3.4. Penampak noda KLT. Visualisasi/penampakan bercak noda KLT dapat dilakukan secara langsung untuk noda senyawa yang berwarna (seperti: dengan cahaya matahari) dan tidak langsung (seperti: dengan bantuan sinar UV) (Wulandari, 2011). Beberapa metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi noda hasil eluasi KLT yaitu detektor sinar UV, fluoresensi, iodium, dan atomisasi (Kristanti, 2008). Teknik penampakan bercak ada 2 macam, yaitu teknik destruktif dan non-destruktif (Wulandari, 2011).

5.3.4.1. Teknik destruktif. Teknik destruktif meliputi reaksi pembakaran dan aktivasi termal. Reaksi pembakaran meliputi pengembangan lempeng KLT dengan menggunakan reagen yang sesuai, kemudian dilakukan pemanasan pada suhu yang cukup tinggi, sehingga terjadi degradasi senyawa organik menjadi senyawa karbon. Aktivasi termal noda hasil pengembangan KLT dipanaskan pada suhu tinggi, kemudian berpendar pada paparan sinar UV (Wulandari, 2011).

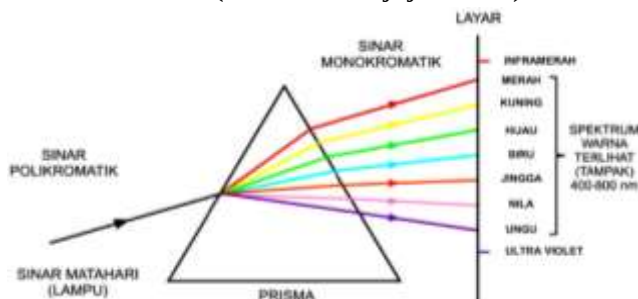
5.3.4.2. Teknik non-destruktif. Teknik non-destruktif meliputi deteksi visibel, deteksi ultraviolet, reaksi reversible, reaksi non-reversible. Deteksi visibel dilakukan dengan mengamati noda di bawah sinar tampak tanpa memerlukan perlakuan lebih lanjut. Deteksi ultraviolet, umumnya digunakan UV₂₅₄ dan UV₃₆₆ untuk membuat noda maupun lempeng KLT berpendar, sehingga noda dapat dideteksi. Reaksi reversible digunakan pereaksi diantaranya uap iodium dan uap ammonia, sehingga dapat memberi warna pada noda. Reaksi non-reversible dapat digunakan pewarna berfluoresensi (seperti: fluorescence, rhodamin B, dan berberin) dan indikator pH (seperti: bromtimol biru dan bromkresol ungu) untuk mendeteksi sifat asam-basa sehingga terjadi respon perubahan warna pada noda (Wulandari, 2011).

6. Spektrofotometri UV-Vis

6.1. Definisi spektrofotometri UV-Vis. Metode spektrofotometri UV-Vis adalah metode analisis dimana menggunakan panjang gelombang ultraviolet dan visibel sebagai area serapan untuk mendeteksi senyawa yang memiliki gugus kromofor dan auksokrom

(Sahumena *et al.*, 2020). Rentang spektra pada spektrofotometri UV-Vis yaitu antara 200-800 nm (Rocha *et al.*, 2018).

6.2. Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis. Sinar matahari atau sinar lampu memiliki sifat polikromatik, apabila dikenai prisma maka akan berubah menjadi sinar monokromatik yang terlihat menghasilkan warna merah, kuning, hijau, biru, jingga, nila, ungu. Sinar-sinar tersebut merupakan sinar tampak (visibel) yang berada pada rentang panjang gelombang 400-800 nm. Sinar matahari atau lampu masih memiliki komponen lain yang tidak terlihat oleh mata yaitu sinar ultraviolet dan inframerah (Sastrohamidjojo, 2018).



Gambar 6. Pembiasan sinar pada prisma (Sastrohamidjojo, 2018).

Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis didasarkan pada Hukum *Lambert-Beer*, dimana apabila seberkas sinar dilewatkan pada larutan dengan panjang gelombang tertentu, maka sebagian diserap, sebagian dipantulkan, dan sebagian diteruskan (Warono dan Syamsudin, 2013). Hukum *Lambert-Beer* memuat tentang hubungan antara tebal kuvet dan konsentrasi larutan dari cuplikan berbanding lurus dengan intensitas sinar yang diteruskan (Misra dan Dubinskii, 2002). Elektron yang terlibat pada penyerapan radiasi UV-Vis ada 3 jenis, yaitu elektron *sigma*, *phi*, dan elektron bukan ikatan.

6.2.1. Elektron *sigma* (δ). Elektron *sigma* merupakan elektron yang membentuk ikatan tunggal. Energi yang diperlukan untuk mengeksitasi elektron sigma yaitu < 200 nm, sehingga senyawa yang memiliki ikatan tunggal dapat digunakan sebagai pelarut untuk analisis spektrofotometri UV-Vis. Contoh elektron sigma: ikatan antara C dan H pada alkana (Gandjar dan Rohman, 2018).

6.2.2. Elektron *phi* (π). Elektron *phi* merupakan elektron yang terdapat pada ikatan rangkap (rangkap dua seperti pada alkena maupun ikatan rangkap tiga dalam alkuna atau nitril). Elektron *phi* mudah tereksitasi dan mampu menyerap di daerah ultraviolet maupun visibel.

Contoh elektron *phi* : olefin, alkena, dan alkuna (Gandjar dan Rohman, 2018).

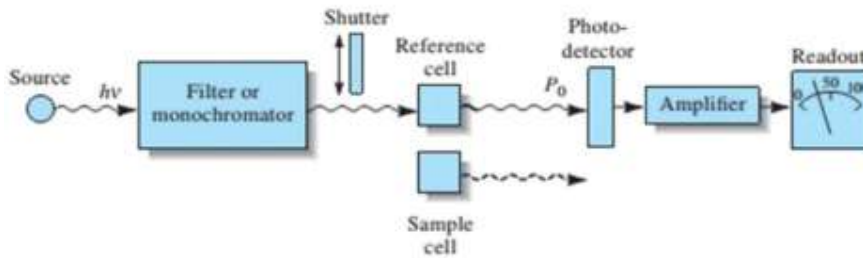
6.2.3. Elektron bukan ikatan / *non bounding electron (n)*.

Elektron bukan ikatan merupakan elektron yang tidak ikut berperan dalam terbentuknya ikatan kimia pada molekul. Elektron bukan ikatan dapat menyerap radiasi di daerah ultraviolet dan visibel karena umumnya elektron bukan ikatan tereksitasi oleh sinar UV-Vis. Contoh molekul organik yang memiliki elektron bukan ikatan diantaranya memiliki atom nitrogen, oksigen, sulfur, dan halogen (seperti: aminobenzena dan 2-bromopropana) (Gandjar dan Rohman, 2018).

Gandjar dan Rohman (2018) menyatakan bahwa, terdapat 4 macam transisi elektron yang terjadi dalam tingkat energi suatu molekul, yaitu transisi *sigma-sigma star* ($\delta \rightarrow \delta^*$) yang memerlukan energi dengan frekuensi panjang gelombang $< 180 \text{ nm}$, transisi *n-sigma star* ($n \rightarrow \delta^*$) yang terjadi pada senyawa organik jenuh dengan energi yang diserap yaitu pada panjang gelombang $150\text{-}250 \text{ nm}$, serta transisi *n-phi star* ($n \rightarrow \pi^*$) dan transisi *phi-phi star* ($\pi \rightarrow \pi^*$). Transisi *n-phi star* ($n \rightarrow \pi^*$) dan transisi *phi-phi star* ($\pi \rightarrow \pi^*$) paling sesuai untuk analisis senyawa obat karena memiliki panjang gelombang antara $200\text{-}700 \text{ nm}$, dan senyawa harus memiliki gugus fungsional tidak jenuh.

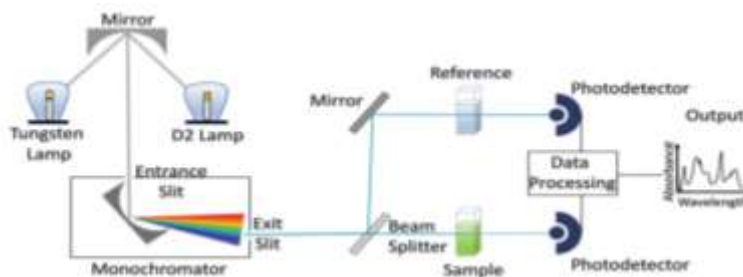
6.3. Instrumen spektrofotometer UV-Vis. Spektrofotometer merupakan instrument yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer merupakan alat untuk mengurai cahaya dari polikromatis menjadi monokromatis, sedangkan fotometer merupakan alat untuk mengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan (Suhanda, 2022). Spektrofotometer UV-Vis terdapat 2 jenis, yaitu berkas tunggal (*single beam*) dan berkas rangkap (*double beam*) sebagai berikut:

6.3.1. Spektrofotometer *single beam*. Spektrofotometer *single beam* menggunakan 1 jenis sumber cahaya/energi, yang selanjutnya cahaya hanya melewati 1 kuvet saja. Pengukuran absorbansi dilakukan secara bergantian, dimulai dari kuvet yang berisi blangko, kemudian diganti dengan larutan standar maupun sampel secara bergantian. Kekurangan spektrofotometer *single beam* yaitu membutuhkan waktu yang lama untuk analisis (Suhanda, 2022). Berikut merupakan skema spektrofotometer *single beam*:



Gambar 7. Skema instrumen spektrofotometer UV-Vis *single beam* (Suhanda, 2022).

6.3.2. Spektrofotometer *double beam*. Spektrofotometer *double beam* pengukuran dapat dilakukan secara bersamaan antara kuvet yang berisi larutan sampel atau standar dan kuvet yang berisi larutan *blanko* sehingga pembacaan serapan zat tidak dipengaruhi oleh perubahan tegangan listrik karena *blanko* dan zat diukur pada saat yang bersamaan (Warono dan Syamsudin, 2013). Sumber cahaya yang digunakan lebih dari 1, sehingga secara bersamaan dapat melalui kuvet yang berisi *blanko* dan sampel atau standar secara bersamaan tanpa harus mengeluarkan salah satu kuvet. Spektrofotometer *double beam* paling umum digunakan dikarenakan praktis untuk mengukur banyak sampel sekaligus (Suhanda, 2022). Skema spektrofotometer *double beam* adalah sebagai berikut:



Gambar 8. Skema instrumen spektrofotometer UV-Vis *double beam* (Rocha et al., 2018).

6.4. Komponen spektrofotometer UV-Vis. Spektrofotometer secara umum terdiri dari komponen sebagai berikut:

6.4.1. Sumber radiasi. Sumber radiasi/cahaya, fungsinya untuk memberikan energi radiasi untuk pengukuran dan mempertahankan intensitas sinar yang tetap pada pengukuran sampel (Warono dan Syamsudin, 2013). Sumber cahaya yang digunakan dalam spektrofotometer UV-Vis yaitu lampu tungsten yang digunakan pada panjang gelombang 350-2.200 nm dan lampu deuterium pada panjang gelombang 190-380 nm (Suhanda, 2022).

6.4.2.Monokromator. Monokromator merupakan komponen yang mengubah cahaya polikromatis sehingga menghasilkan radiasi monokromatis (Warono dan Syamsudin, 2013). Monokromator terdiri dari 3 bagian, yaitu elemen pendispersi, celah masuk, dan celah keluar. Elemen pendispersi berfungsi sebagai tempat jatuhnya cahaya yang kemudian didispersikan berdasarkan panjang gelombang yang sesuai. Celah masuk merupakan tempat masuk sinar, sedangkan celah keluar merupakan tempat keluar hasil dispersi (Rochman, 2021).

6.4.3.Sel/kuvet. Sel atau kuvet merupakan tempat/wadah sampel yang akan diukur absorbansinya (Warono dan Syamsudin, 2013). Kuvet umumnya memiliki tebal 1 cm. Kuvet perlu dicuci sebelum maupun sesudah digunakan untuk analisis untuk menghindari sisa sampel yang menempel dan mempengaruhi analisis lain (Gandjar dan Rohman, 2018). Jenis kuvet yang umum digunakan untuk analisis dengan metode spektrofotometri UV-Vis yaitu yang terbuat dari kuarsa (Gandjar dan Rohman, 2018). Kuvet yang terbuat dari kaca tidak tembus sinar pada daerah UV (Noviyanto, 2020).

6.4.4.Detektor. Detektor berfungsi menangkap energi cahaya dan merubahnya dalam bentuk energi listrik (Warono dan Syamsudin, 2013). Detektor yang digunakan dalam spektrofotometri UV-Vis yaitu *phototube*, *pyroelectric detector*, *thermopiles*, dan *photomultiplier*. Syarat detektor yaitu sensitifitas tinggi, waktu respon pendek, stabilitas panjang, dan sinyal elektronik jelas *tube* (Misra dan Dubinskii, 2002).

6.4.5.Tampilan/display. Tampilan (*display*) berfungsi mengubah energi listrik menjadi bentuk angka sesuai hasil analisis sehingga dapat diinterpretasikan (Warono dan Syamsudin, 2013). Alat yang digunakan yaitu *transducer*, dimana sinyal yang diproses diubah menjadi bentuk yang dapat dipahami manusia. Alat pembacaan ada 2 macam, yaitu sirkuit listrik serta *processor* mikro dan komputer (Wonorahardjo, 2020).

7. Validasi metode analisis

Validasi metode analisis merupakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (USP, 2013). Parameter analisis yang perlu diperhatikan antara lain:

7.1. Linearitas. Linearitas merupakan kemampuan suatu prosedur analitik dengan rentang tertentu untuk mendapatkan hasil yang secara langsung (Kemenkes RI, 2020). Koefisien korelasi diperoleh berdasarkan hubungan antara absorbansi (x) dan kadar larutan standar (y) pada analisis regresi linier $y = a + bx$ (Harmita, 2004). Syarat koefisien korelasi yang baik yaitu nilai r mendekati 1 dan lebih dari 0,997 (Anngela *et al.*, 2021; Chan *et al.*, 2004). Persamaan regresi atau persamaan kurva baku diperoleh setelah larutan baku dibuat 4-6 seri konsentrasi dalam kisaran rentang yang optimal (Csuros, 2018). Pengukuran absorbansi selanjutnya dilakukan pada panjang gelombang maksimum dan hasil absorbansi dapat dimasukkan ke dalam persamaan regresi sehingga dapat diperoleh nilai *slope* (b) (Misra dan Dubinskii, 2002). Persamaan kurva baku yang diperoleh kemudian dapat digunakan sebagai dasar dalam perhitungan kadar dari cuplikan sampel (Csuros, 2018).

7.2. Batas deteksi (LOD). Batas deteksi atau *Limit of Detection* (LOD) merupakan konsentrasi terendah analit dalam sampel yang dapat dideteksi, sehingga dapat diketahui bahwa konsentrasi analit di bawah atau di atas batas tertentu (Kemenkes RI, 2020). Riyanto (2019) menyatakan, batas deteksi yaitu konsentrasi analit paling kecil yang masih dapat memberi respon dibandingkan dengan blangko.

7.3. Batas kuantisasi (LOQ). Batas kuantisasi atau *Limit of Quantification* (LOQ) merupakan konsentrasi terendah dari analit dalam sampel yang masih memenuhi kriteria akurasi dan presisi yang dapat diterima dalam kondisi percobaan yang telah ditetapkan. Batas kuantisasi dinyatakan sebagai konsentrasi analit (misalnya persen, bpj, bpm) dalam sampel (Kemenkes RI, 2020).

7.4. Presisi (keseksamaan). Presisi atau keseksamaan merupakan tingkat kedekatan antara hasil uji individu terhadap nilai benar, bila prosedur diterapkan berulang kali terhadap sampling ganda atau sampel yang homogen (Kemenkes RI, 2020). Keseksamaan diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi) dengan syarat $\% \text{RSD} \leq 2\%$ (Harmita, 2004).

7.5. Akurasi (kecermatan). Akurasi atau kecermatan merupakan suatu tingkat kedekatan antara hasil uji yang telah dilakukan dengan prosedur yang sedang divalidasi terhadap nilai yang sebenarnya (Kemenkes RI, 2020). Akurasi atau kecermatan dapat ditentukan dengan 2 metode yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) atau metode penambahan baku (*standard addition method*). Metode simulasi dilakukan dengan menambahkan sejumlah baku pembanding ke dalam campuran bahan pembawa sediaan farmasi (plasebo) lalu campuran tersebut dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar analit yang ditambahkan (Harmita, 2004).

Metode penambahan baku dilakukan dengan menambahkan sampel dianalisis lalu sejumlah tertentu analit yang diperiksa ke dalam sampel, kemudian dicampur dan dianalisis lagi. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya. Syarat % *recovery* yaitu 98-102% (Kemenkes RI, 2020). Akurasi dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut (Harmita, 2004):

$$\% \text{ Recovery} = \frac{C_F}{C_A} \times 100 \%$$

Keterangan:

- C_F : konsentrasi total sampel yang diperoleh dari pengukuran
 C_A : konsentrasi sampel sebenarnya

B. Landasan Teori

Obat-obat herbal sangat diminati oleh masyarakat luas disebabkan oleh klaim keamanan, kemanjuran, penerimaan budaya dan efek samping yang lebih rendah dibandingkan dengan obat konvensional. Obat-obat herbal tersebut memiliki biaya yang efektif dan mudah didapat. Ada empat kemungkinan pemalsuan dalam herbal obat, yang pertama adalah obat herbal yang dipalsukan dengan obat-obatan sintetis, pemalsuan dengan logam berat, obat-obatan herbal tanpa bahan aktif, dan obat herbal dengan bahan aktif yang tidak sesuai. Farmasis memiliki tanggung jawab untuk memberi edukasi tentang terapi herbal yang aman, membantu pasien membedakan informasi yang benar dan salah, menghindari dari efek buruk bahan obat (Mullaicharam, 2011)

Bahan kimia obat (BKO) dalam obat tradisional dapat menjadi *selling point* dikarenakan diminati konsumen karena memiliki reaksi yang cepat “*cespleng*” pada tubuh. Ketidaktahuan konsumen apabila BKO terdapat dalam sediaan jamu dapat menjadi bahaya, karena penggunaan bahan kimia obat secara tidak terkontrol baik dosis

maupun cara penggunaannya, adanya kontraindikasi penggunaan bahan kimia bagi penderita penyakit tertentu, serta interaksi bahan obat yang mungkin terjadi apabila pengguna obat tradisional sedang mengkonsumsi obat lain, sehingga dapat menimbulkan efek samping bagi tubuh. Sebanyak 51 obat tradisional jamu mengandung bahan kimia obat (BKO) yang didominasi oleh jamu pegal linu, pelangsing, dan afrodisiak, diantaranya parasetamol, asam mefenamat, sildenafil sitrat, fenilbutazon, kafein, dan sibutramine hidroklorida. (BPOM RI, 2014).

Berdasarkan Peraturan BPOM No. 007 tahun 2012 obat tradisional dilarang mengandung etil alkohol > 1% (kecuali dalam bentuk tingtur yang penggunaannya dengan pengenceran), bahan kimia obat sintetik maupun hasil isolasi, narkotika-psikotropika, serta bahan lainnya yang dapat membahayakan kesehatan. Asam mefenamat merupakan salah satu bahan kimia obat yang disalahgunakan untuk dicampurkan dalam sediaan jamu pegal linu karena memiliki efek sebagai anti nyeri (Rusmalina *et al.*, 2020).

Obat-obat antiinflamasi golongan non steroid (OAINS) menyebabkan berbagai sindrom ginjal yang berbeda yang meliputi insufisiensi ginjal, iskemik akut, dan nefritis interstitial akut yang disebabkan oleh efek hemodinamik dari penghambatan enzim siklooksigenase (COX). Asam mefenamat sebagai salah satu obat golongan OAINS dapat menginduksi terjadinya perubahan ringan pada histologi ginjal terutama nekrosis glomerulus ringan dan atrofi tubulus. Asam mefenamat sama seperti obat golongan OAINS lainnya dapat menghasilkan nefrotoksisitas (Somchit *et al.*, 2014).

Asam mefenamat merupakan derivat asam antranilat dan merupakan golongan obat antiinflamasi non steroid (OAINS) yang memiliki efek analgesik (NCBI, 2022). Asam mefenamat bekerja dengan mengikat reseptor prostaglandin sintetase COX-1 dan COX-2, sehingga menghambat aksi prostaglandin sintetase. Reseptor ini memiliki peran sebagai mediator utama inflamasi, sehingga gejala nyeri dapat berkurang. Efek samping asam mefenamat diantaranya yaitu trombotik kardiovaskular, pendarahan gastrointestinal, ulserasi, hepatotoksisitas, hipertensi, toksisitas ginjal dan hiperkalemia, reaksi kulit yang serius, toksisitas hematologi (Rajat *et al.*, 2019).

Asam mefenamat pada jamu pereda nyeri dapat di deteksi menggunakan metode Kromatografi lapis tipis (KLT). Metode ini

digunakan karena tingkat selektifitas yang tinggi, tidak memerlukan peralatan canggih dan sederhana. Prinsip metode KLT yaitu memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda, sehingga dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa yang memiliki polaritas yang hampir sama (Rusmalina *et al.*, 2020). Analisis dengan metode KLT menghasilkan pemisahan yang baik dengan nilai R_f yaitu 0,2-0,8 (Wulandari, 2011).

Asam mefenamat memiliki gugus kromofor dan auksokrom, sehingga kadarnya dapat ditentukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis (Gandjar dan Rohman, 2009). Spektrofotometer UV-VIS merupakan instrument analisis kimia untuk mendeteksi senyawa baik padat maupun cair berdasarkan absorbansi foton. Sampel perlu diperlakukan atau derivatisasi dengan cara penambahan reagen dalam pembentukan garam kompleks dan lain sebagainya untuk selanjutnya dianalisis, sehingga sampel dapat menyerap foton pada daerah UV-VIS (panjang gelombang 200-700 nm) (Irawan, 2019).

Validasi metode analisis perlu dilakukan sebelum analisis kandungan asam mefenamat dalam jamu. Validasi metode analisis dilakukan untuk memastikan bahwa metode analisis yang digunakan pada kondisi percobaan di laboratorium sesuai dengan parameter yang disyaratkan. Parameter validasi metode analisis diantaranya meliputi, linearitas, akurasi, presisi, LOD, dan LOQ (USP, 2013). Validasi metode analisis perlu dilakukan keterbatasan alat laboratorium, bahan kimia, maupun kondisi lain, sehingga mengakibatkan metode tersebut tidak bisa diterapkan secara menyeluruh (Uno *et al.*, 2015).

C. Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Sampel jamu pereda nyeri yang beredar di Ngawi dan *online shop* diduga memenuhi syarat izin edar.
2. Sampel jamu pereda nyeri yang beredar di Ngawi dan *online shop* diduga tidak mengandung BKO asam mefenamat.