



**ANALISA KUALITATIF PIROKSIKAM DAN FENILBUTAZON MENGGUNAKAN
REAGEN SPESIFIK YANG DIIMOBILISASI PADA MEMBRAN POLIAMIDA
DALAM TES STRIP**

SKRIPSI

Oleh:

**Lisa Dewi Hartini
NIM 081810301005**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER**

2013



**ANALISA KUALITATIF PIROKSIKAM DAN FENILBUTAZON MENGGUNAKAN
REAGEN SPESIFIK YANG DIIMOBILISASI PADA MEMBRAN POLIAMIDA
DALAM TES STRIP**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kimia (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh:

**Lisa Dewi Hartini
NIM 081810301005**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER**

2013

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Bapak Sukoso dan Ibu Sarihati tersayang dan tercinta, terima kasih banyak atas semua pengorbanan, doa, kasih sayang, dan motivasi yang selama ini diberikan kepada ananda;
2. Mbak Sriwidyastutik serta adik-adikku Diah Rosalinda Agustin dan Filsa Lestari Apriliana yang telah memberikan dorongan, semangat, dan perhatiannya;
3. Guru-guru di SDN IV Tanjung Kamal, SMPN 2 Panji, SMA 2 Situbondo dan dosen-dosen di Jurusan Kimia FMIPA UNEJ
4. Almamater tercinta Jurusan Kimia FMIPA UNEJ

MOTTO

“Jika Allah menimpakan suatu kemudahan kepadamu, maka tidak ada yang dapat menghilangkannya kecuali Dia dan jika Allah menghendaki kebaikan bagi kamu, maka tidak ada yang dapat menolak karunia-Nya”

(Q.S Yunus : 107)*

“Orang-orang yang beriman dan selalu mengingat Allah, maka hatinya akan menjadi tentram”

(Q.S Ar-Ra'd : 28)*

* Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. Al-Qur'an dan Terjemahan. Bandung : CV Penerbit J-Art

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Lisa Dewi Hartini

NIM : 081810301005

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: *analisa kualitatif piroksikam dan fenilbutazon menggunakan reagen spesifik yang diimobilisasi pada membran poliamida dalam tes strip* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi mana pun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Mei 2013

Yang menyatakan,

Lisa Dewi Hartini

NIM 081810301005

SKRIPSI

**ANALISA KUALITATIF PIROKSIKAM DAN FENILBUTAZON MENGGUNAKAN
REAGEN SPESIFIK YANG DIIMOBILISASI PADA MEMBRAN POLIAMIDA
DALAM TES STRIP**

Oleh

Lisa Dewi Hartini

NIM. 081810301005

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Drs. Zulfikar, Ph.D.

Dosen Pembimbing Anggota : Ika Oktavianawati, S.Si, M.Sc

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Analisa Kualitatif Piroksikam dan Fenilbutazon Menggunakan Reagen Spesifik yang Diimobilisasi pada Membran Poliamida dalam Tes Strip* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

hari :

tanggal:

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Tim Penguji:

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Drs. Zulfikar, Ph.D
NIP 196310121987021001

Ika Oktavianawati S.Si, M.Sc
NIP 198010012003122001

Penguji 1,

Penguji 2,

Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc, Ph.D
NIP 195910091986021001

Yeni Maulidah M., S.Si, M.Si
NIP 198008302006042002

Mengesahkan
Dekan,

Prof. Drs. Kusno, DEA., Ph.D
NIP 196101081986021001

RINGKASAN

Analisa Kualitatif Piroksikam dan Fenilbutazon Menggunakan Reagen Spesifik yang Diimobilisasi pada Membran Poliamida dalam Tes Strip; Lisa Dewi Hartini, 081810301005; 2013; 58 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penggunaan jamu tradisional di Indonesia sangatlah luas, karena masyarakat percaya bahwa jamu bersifat aman. Namun saat ini telah terjadi penyalahgunaan dari jamu yaitu adanya penambahan bahan kimia obat dalam jamu, misalnya piroksikam dan fenilbutazon. Piroksikam dan fenilbutazon merupakan contoh dari obat analgesik yang menekan rasa nyeri pada daerah sakit sehingga orang yang sakit tersebut tidak merasakan kesakitan. Proses analisisnya masih membutuhkan waktu yang lama, salah satunya dengan HPLC. Proses analisa ini dilakukan dalam skala laboratorium, oleh karena itu dibutuhkan proses analisa yang sederhana. Proses analisa yang dikembangkan dalam penelitian ini yaitu tes strip. Tes strip itu sendiri terdiri dari 3 bagian utama yaitu membran, reagen, dan detektor. Membran yang digunakan dalam penelitian ini yaitu poliamida, reagen yang digunakan yaitu reagen liberman, mandelin, kobalt tiosianat, feri amonium sulfat, dan tembaga asetat. Sedangkan detektor pada tes strip yaitu berupa perubahan warna pada strip-strip. Tujuan dari penelitian ini adalah (i) mengetahui reagen liberman, mandelin, feri amonium sulfat, tembaga asetat dan kobalt tiosianat dalam mengidentifikasi piroksikam dan fenilbutazon, (ii) mengetahui proses imobilisasi membran poliamida dengan reagen, (iii) mengetahui kinerja tes strip terhadap piroksikam dan fenilbutazon.

Pelaksanaan penelitian ini terdiri dari beberapa tahap, yaitu: (i) optimasi pelarut sampel standar, (ii) pembuatan dan optimasi reagen, (iii) imobilisasi dan optimasi reagen ke dalam membran, (iv) uji kinerja tes strip, dan (v) uji tes strip dengan larutan standar konsentrasi tinggi. Optimasi pelarut sampel standar dilakukan dengan memvariasikan pelarut yaitu aquades, etanol, dan kloroform. Proses

pembuatan reagen sesuai standar pembuatan reagen, imobilisasi dan optimasi reagen ke dalam membran poliamida dilakukan secara *entrapment* dan adsorpsi. Proses *entrapment* dilakukan dengan mencampur benang nilon sebanyak 10 gram dengan HCL 37% 20 ml, kemudian ditambahkan reagen, diaduk hingga homogen dan didiamkan 24 jam, dilanjutkan dengan pencetakan. Proses adsorpsi yaitu mengadsorb membran kosong dengan reagen standar, optimasinya dilakukan selama 6, 12, dan 24 jam. Uji kinerja tes strip yaitu berupa limit deteksi, reproduisibilitas, dan *life time*, kemudian uji tes strip dengan larutan standar konsentrasi tinggi.

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa reagen-reagen tersebut dapat memberikan perubahan warna dalam pelarut etanol. Hasil pemilihan reagen didapatkan liberman tidak dapat memberikan perubahan warna apabila direaksikan dengan piroksikam dan fenilbutazon dalam bentuk larutan, namun dapat memberikan perubahan warna dalam bentuk serbuk, sedangkan untuk reagen mandelin, feri amonium sulfat, tembaga asetat dan kobalt tiosianat dapat mengidentifikasi piroksikam dan fenilbutazon dalam bentuk larutan. Membran poliamida tidak dapat diimobilisasi secara *entrapment* dengan reagen liberman, mandelin, kobalt tiosianat, feri amonium sulfat, dan tembaga asetat, karena terjadinya *leaching* pada saat membran dimasukkan dalam bak koagulasi. Untuk adsorpsi, reagen liberman dan mandelin tidak dapat mengadsorb reagen dan membrannya hancur, namun reagen feri amonium sulfat, tembaga asetat, dan kobalt tiosianat dapat mengadsorb reagen dengan baik. Kinerja tes strip berupa limit deteksi, reproduisibilitas, dan *life time*. Tes strip kobalt tiosianat dengan sampel piroksikam memiliki limit deteksi 1,893 mg/ml, reproduisibilitas 0,475% dan *life time* 15 hari, sedangkan dengan fenilbutazon memiliki limit deteksi 1,947 mg/ml, reproduisibilitas 0,025% dan *life time* 15 hari. Tes strip feri amonium sulfat dengan sampel piroksikam dan fenilbutazon berturut-turut memiliki limit deteksi 0,816 mg/ml dan 0,713 mg/ml, reproduisibilitas 0,137% dan 0,115% dan *life time* lebih dari 80 hari. Tes strip tembaga asetat dengan piroksikam memiliki limit deteksi 0,629 mg/ml, reproduisibilitas 0,175% dan *life time* lebih dari 80 hari.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “ Analisa Kualitatif Piroksikam dan Fenilbutazon menggunakan Reagen Spesifik yang Diimobilisasi Pada Membran Poliamida dalam Tes Strip”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Drs. Kusno, DEA, Ph.D selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
2. Drs. Zulfikar, Ph.D dan Ika Oktavianawati, S.Si, M.Sc selaku Dosen Pembimbing Utama dan Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran serta perhatiannya untuk memberikan dukungan, dan pengarahan demi terselesainya penulisan skripsi ini;
3. Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc, Ph.D selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember dan selaku Dosen Penguji 1 dan Yeni Maulidah Muflihah, S.Si, M.Si selaku dosen Penguji 2 yang telah meluangkan waktunya guna menguji, serta memberikan kritik saran demi kesempurnaan skripsi ini;
4. Tri Mulyono, S.Si, M.Si selaku Dosen pembimbing Akademik yang telah memberikan saran dan nasehatnya selama ini;
5. seluruh staf administrasi dan teknisi laboratorium Jurusan Kimia yang telah banyak membantu;
6. tim kimia analitik (Karisma, Titis, mba Vici, dan mba Yuris), terima kasih atas kerjasama dan bantuannya selama penelitian;

7. Nikson Daat yang membantu dan selalu memberi motivasi agar cepat lulus;
8. kosan jenk-jenk Jawa 2 (Ucik, Novita, Fitri, Deny, dan Dek Fa) terima kasih atas suka dan dukanya;
9. tim *backpacker* (Rustin, Titis, Risma, Anik, Zia, Aini, mba Aisyah, Khilda, , dan Imah) terima kasih atas persahabatan dan petualangannya;
10. teman-teman kimia angkatan 2008 terima kasih untuk semua kekompakan, segala bantuan, semangat, dan kenangan yang telah diberikan;
11. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Penulis merasa penulisan skripsi ini belum sempurna, penulis menerima segala bentuk kritik dan saran yang sifatnya membangun. Akhirnya penulis berharap, semoga karya tulis ini dapat bermanfaat.

Jember, Mei 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
HALAMAN PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Obat Bahan Alam	5
2.2 Penyalahgunaan Obat dalam Industri Jamu	7
2.3 Piroksikam	8
2.3.1 Definisi dan Sifat Piroksikam	8
2.3.2 Manfaat dan Efek Samping Piroksikam	9

2.3.3 Analisa Piroksikam	10
2.4 Fenilbutazon	10
2.4.1 Sifat Fenilbutazon	11
2.4.2 Efek Samping Fenilbutazon.....	12
2.4.3 Analisa Fenilbutazon	12
2.5 Trend Teknik Analisis Kimia	13
2.6 Tes Strip	14
2.7 Membran Poliamida	15
2.8 Reagen Spesifik	16
2.9 Spektrofotometri Reflektan	19
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	22
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	22
3.2.1 Alat Penelitian.....	22
3.2.2 Bahan Penelitian	22
3.3 Diagram Alir Penelitian	23
3.4 Prosedur Penelitian	24
3.4.1 Pembuatan Reagen.....	24
3.4.2 Optimasi Reagen.....	26
3.4.3 Uji Kelayakan Pelarut sampel.....	26
3.4.4 Optimasi dan Imobilisasi Reagen dalam Poliamida	26
3.4.5 Uji Kualitatif Tes Strip	27
3.4.6 Uji Kinerja Tes Strip.....	27
3.4.7 Preparasi Analit dalam Sampel Jamu	29
3.4.8 Uji Tes Strip dengan Standart Konsentrasi Tinggi	29
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Uji Kelayakan Pelarut	30
4.1.1 Sampel Standar Piroksikam	31
4.1.2 Sampel Standar Fenilbutazon	33

4.2 Variasi Konsentrasi Reagen	35
4.2.1 Reagen Liberman	36
4.2.2 Reagen Mandelin	37
4.2.3 Reagen Feri Amonium Sulfat	37
4.2.4 Reagen Kobalt Tiosianat.....	39
4.2.5 Reagen Tembaga Asetat	40
4.3 Optimasi dan Imobilisasi Reagen dalam Poliamida	41
4.4 Uji Kualitatif Tes Strip	45
4.4.1 Tes Strip Kobalt Tiosianat	46
4.4.2 Tes Strip Feri Amonium Sulfat.....	47
4.4.3 Tes Strip Tembaga Asetat.....	48
4.5 Kinerja Tes Strip	48
4.5.1 Limit Deteksi.....	48
4.5.2 Reprodusibilitas Tes Strip.....	53
4.5.3 <i>LifeTime</i> Tes Strip	54
4.5 Uji Tes Strip dengan Larutan Standar Konsentrasi yang Tinggi.....	56
BAB 5. PENUTUP.....	58
5.1 Kesimpulan	58
5.2 Saran.....	58
DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN	65

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Sifat Fisika Kimia Piroksikam	9
3.1 Variasi Komposisi Reagen Mandelin	24
3.2 Variasi Komposisi Reagen Liberman	24
3.3 Variasi Komposisi Reagen Feri Amonium Sulfat	25
3.4 Variasi Komposisi Reagen Kobalt Tiosianat	25
3.5 Variasi Komposisi Reagen Tembaga Asetat.....	25
4.1 Perubahan Warna Piroksikam dalam Berbagai Pelarut dengan Liberman ..	31
4.2 Perubahan Warna Piroksikam dalam Berbagai Pelarut dengan Reagen	32
4.3 Perubahan Warna Fenilbutazon dalam Berbagai Pelarut dengan Liberman	33
4.4 Perubahan Warna Fenilbutazon dalam Berbagai Pelarut dengan Reagen ...	35
4.5 Perubahan Warna Piroksikam dan Fenilbutazon dengan Reagen Liberman dalam Beberapa Konsentrasi	36
4.6 Perubahan Warna Piroksikam dan Fenilbutazon dengan Reagen Mandelin dalam Beberapa Konsentrasi	37
4.7 Perubahan Warna Piroksikam dan Fenilbutazon dengan Reagen Feri Amonium Sulfat dalam Beberapa Konsentrasi.....	38
4.8 Perubahan Warna Piroksikam dan Fenilbutazon dengan Reagen Kobalt Tiosianat dalam Beberapa Konsentrasi.....	40
4.9 Perubahan Warna Piroksikam dan Fenilbutazon dengan Reagen Tembaga Asetat dalam Beberapa Konsentrasi	41
4.10 Hasil Uji Kualitatif Tes Strip dengan Sampel.....	46
4.11 Nilai Reprodusibilitas Tes Strip dengan Sampel	54

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Logo Jamu	5
2.2 Logo Obat Herbal Terstandar	6
2.3 Logo Fitofarmaka	7
2.4 Struktur Piroksikam.....	9
2.5 Struktur Fenilbutazon	12
2.6 Cara Penggunaan Tes Strip.....	14
2.7 Struktur Nilon	16
2.8 Mekanisme Reaksi Reagen Liberman dengan Fenol.....	17
2.9 Perubahan Warna Vanadat	18
2.10 Reaksi Kompleks Ion Fe^{3+} dengan Piroksikam	18
2.11 Reaksi Kompleks Ion Cu^{2+} dengan Piroksikam	19
3.1 Diagram Alir Penelitian.....	23
4.1 Reaksi Hipotetik Co^{2+} dengan Fenilbutazon	34
4.2 Reaksi hipotetik Fe^{3+} dengan Fenilbutazon.....	34
4.3 Reagen Kobalt Tiosianat.....	39
4.4 Reagen Tembaga Asetat	41
4.5 Tes Strip dengan Proses Imobilisasi <i>Entrapment</i>	42
4.6 Tes Strip dengan Proses Imobilisasi Adsorbsi.....	43
4.7 Reaksi Ion Co^{2+} dengan Cl^-	43
4.8 Tes Strip Sebelum dan Setelah Ditetesi Sampel.....	44
4.9 Hasil Optimasi Tes Strip Kobalt Tiosianat.....	45
4.10 Foto Hasil Mikroskop Kamera Tes Strip Kobalt Tiosianat dengan Piroksikam	46

4.11 Foto Hasil Mikroskop Kamera Tes Strip Kobalt Tiosianat dengan Fenilbutazon	47
4.12 Foto Hasil Mikroskop Kamera Tes Strip Feri Amonium Sulfat dengan Piroksikam	47
4.13 Foto Hasil Mikroskop Kamera Tes Strip Feri Amonium Sulfat dengan Fenilbutazon	48
4.14 Foto Hasil Mikroskop Kamera Tes Strip Tembaga Asetat dengan Sampel Piroksikam	48
4.15 Limit Deteksi Tes Strip Kobalt Tiosianat+Piroksikam	49
4.16 Grafik Hubungan Konsentrasi dan Reflektansi Tes Strip Kobalt Tiosianat dengan Sampel Piroksikam	49
4.17 Limit Deteksi Tes Strip Kobalt Tiosianat+Fenilbutazon.....	50
4.18 Grafik Hubungan Konsentrasi dan Reflektansi Tes Strip Kobalt Tiosianat dengan Sampel Fenilbutazon.....	50
4.19 Limit Deteksi Tes Strip Feri Amonium Sulfat+Piroksikam	51
4.20 Limit Deteksi Tes Strip Feri Amonium Sulfat+Fenilbutazon	51
4.21 Grafik Hubungan Konsentrasi dan Reflektansi Tes Strip Feri Amonium Sulfat dengan Sampel Piroksikam	51
4.22 Grafik Hubungan Konsentrasi dan Reflektansi Tes Strip Feri Amonium Sulfat dengan Sampel Fenilbutazon	52
4.23 Limit Deteksi Tes Strip Tembaga Asetat+Piroksikam	52
4.24 Grafik Hubungan Konsentrasi dan Reflektansi Tes Strip Tembaga Asetat dengan Sampel Piroksikam	53
4.25 <i>Life Time</i> Tes Strip Kobalt Tiosianat dengan Piroksikam	54
4.26 <i>Life Time</i> Tes Strip Kobalt Tiosianat dengan Fenilbutazon	55
4.27 <i>Life Time</i> Tes Strip Feri Amonium Sulfat dengan Piroksikam	55
4.28 <i>Life Time</i> Tes Strip Feri Amonium Sulfat dengan Fenilbutazon.....	55
4.29 <i>Life Time</i> Tes Strip Tembaga Asetat dengan Piroksikam.....	55
4.30 Tes Strip Sebelum Ditetesi Sampel	56

4.31 Tes Strip dengan Sampel Piroksikam	56
4.32 Tes Strip Sebelum Ditetesi Sampel	57
4.33 Tes Strip dengan Sampel Fenilbutazon	57

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Limit Deteksi	65
B. Optimasi Membran	71
C. Data Reprodusibilitas.....	74
D.. Hasil Uji Real Jamu	78

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Osteoarthritis dan *Rheumatoid Arthritis* merupakan jenis penyakit rematik yang sering dijumpai dalam masyarakat, terutama bagi lansia. Saat ini telah dikenal lebih dari 100 jenis penyakit rematik, tetapi hanya beberapa di antaranya yang sering dijumpai, termasuk kedua penyakit yang tersebut di atas. Penyakit rematik umumnya, ditandai dengan adanya keluhan pada nyeri sendi, kaku sendi, bengkak sendi dan gangguan fungsi (Isbagio, 1995). Penyebab penyakit rematik masih belum diketahui dengan jelas, sehingga obat yang beredar hanya meringankan gejala penyakit rematik. Obat tradisional atau jamu merupakan salah satu obat yang digunakan untuk meringankan gejala penyakit rematik.

Obat Tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman (Depkes RI, 1994). Masyarakat di Indonesia, dapat menggunakan jamu secara bebas tanpa harus berkonsultasi dengan tenaga medis. Hal tersebut terjadi karena mayoritas masyarakat percaya bahwa jamu adalah aman untuk dikonsumsi karena berasal dari alam. Faktanya, walaupun jamu bersifat alami, namun dalam penggunaannya perlu pengawasan yang ketat dari pihak medis karena cukup berbahaya (Hermanto, 2007).

Fakta di atas diperparah dengan kondisi industri jamu yang semakin meluas, produsen dapat memproduksi jamu sebanyak mungkin namun berkualitas rendah sehingga tidak layak untuk dikonsumsi. Beberapa jamu juga dicampur dengan bahan kimia obat yang berbahaya sehingga dilarang dikonsumsi. Pada tahun 2011, BPOM mengeluarkan daftar obat tradisional yang mengandung bahan kimia obat yaitu

poten-zhi kapsul, asam urat nyeri tulang cap gunung Krakatau serbuk, buah naga kapsul lebah makasar, dewa dewi kapsul, jamu cap putri sakti penyehat badan (penggemuk badan) cairan obat dalam, jamu tradisional jawa asli cap putri sakti cairan obat dalam, dan lain sebagainya (Kompas, 2011).

Bahan kimia yang sering digunakan dalam jamu yaitu fenilbutazon, piroksikam, parasetamol, sildenafil sitrat, dan natrium diklofenak. Piroksikam merupakan suatu anti radang non steroid (*non steroid anti inflammatory drugs*, NSAIDs) yang merupakan golongan asam enolat turunan oksikam. Piroksikam dapat digunakan untuk meringankan gejala penyakit *osteoarthritis* dan *rheumatoid arthritis* (Wilmana, 2007). Piroksikam merupakan serbuk kristalin tidak berwarna, tidak berbau, berasa pahit, dalam bentuk monohidrat berwarna kuning. Piroksikam tidak larut dalam air, dalam asam encer dan sikloheksana (Florey, 1986).

Fenilbutazon merupakan turunan dari pirazolon yang mempunyai efek analgesik dan inflamasi. Fenilbutazon digunakan untuk mengobati *rheumatoid arthritis* dan sejenisnya. Penggunaan fenilbutazon yang banyak akan mengakibatkan efek negatif yang berakibat fatal, seperti anemia aplastik, agranulositosis, dan pendarahan lambung. Oleh karena itu pemakaian fenilbutazon harus dibatasi. Efek toksik fenilbutazon lebih berat pada penderita di atas umur 60 tahun sehingga pemakaiannya untuk golongan ini tidak disarankan. Fenilbutazon berupa serbuk putih atau agak putih, tidak berbau, sangat sukar larut dalam air, mudah larut dalam aseton dan dalam eter, serta larut dalam etanol (Ditjen POM, 1995).

Analisa piroksikam dan fenilbutazon membutuhkan proses yang cukup panjang. Misalnya analisa piroksikam dengan HPLC menggunakan kolom C18 Symmetry-Extend, dengan fase gerak campuran air:methanol (45:55), dan dengan menggunakan detector UV pada panjang gelombang 240 nm (Kumar dkk, 2010). HPLC juga dipergunakan untuk analisa fenilbutazon namun menggunakan kolom C-18 SPE, dengan fase gerak campuran hexane:diethyl ether (50:50) dan detektor UV-Vis pada panjang gelombang 240 nm (Jedziniak dkk, 2005). Analisa piroksisam dan fenilbutazon menggunakan teknik HPLC membutuhkan peralatan yang cukup rumit

dan prosedur yang bertahap. Oleh karena itu perlu dikembangkan teknik identifikasi yang lebih sederhana dan lebih mudah dalam proses analisa.

Teknik analisa kualitatif yang lebih sederhana dan lebih mudah dalam proses analisa yang berkembang saat ini yaitu tes strip. Tes strip merupakan alat diagnostis dasar yang digunakan untuk menentukan perubahan patologis dalam analisis standar. Tes strip banyak digunakan untuk menguji asam urat, gula darah, kolesterol, dan tes kehamilan. Dalam proses pengujiannya, strip membran yang mengandung reagen spesifik jika bereaksi dengan sampel akan memberikan perubahan warna yang spesifik. Reagen yang digunakan haruslah reagen yang spesifik sehingga memudahkan dalam proses identifikasi. Reagen yang digunakan dalam penelitian untuk analisa kualitatif piroksikam dan fenilbutazon yaitu liberman, mandelin (Clark, 2003) feri amonium sulfat, tembaga asetat dan kobalt tiosianat (Dorneanu, 2010).

Selain reagen spesifik, tes strip juga menggunakan membran. Jenis membran yang sering digunakan yaitu selulosa asetat, nata de coco dan poliamida. Membran poliamida berasal dari nilon yang memiliki karakteristik kekuatan tensil, elastisitas yang baik, dan mempunyai titik lebur yang tinggi (Steven, 1989). Oleh karena itu membran poliamida sangat baik digunakan dalam tes strip.

Hasil penjabaran di atas dapat digunakan untuk pertimbangan dalam membuat alat deteksi piroksikam dan fenilbutazon sehingga perlu adanya kajian yang lebih komprehensif mengenai kelayakan reagen, kelayakan membran dan kinerja tes strip. Dengan adanya alat pendeteksi berupa tes strip, maka diharapkan proses analisa piroksikam dan fenilbutazon menjadi semakin mudah dan lebih sederhana.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah reagen liberman, mandelin, feri amonium sulfat, tembaga asetat dan kobalt tiosianat dapat mengidentifikasi piroksikam dan fenilbutazon?
2. Apakah membran poliamida dapat diimobilisasi dengan reagen spesifik?
3. Bagaimana kinerja tes strip terhadap piroksikam dan fenilbutazon?

1.3 Batasan Masalah

1. Teknik imobilisasi yang digunakan yaitu teknik *entrapment* dan *adsorpsi*
2. Uji kinerja yang dilakukan yaitu *life time*, reproduibilitas, dan limit deteksi
3. Sampel jamu yang digunakan adalah jamu rematik/pegal linu.

1.4 Tujuan

1. Mengetahui reagen liberman, mandelin, feri amonium sulfat, tembaga asetat dan kobalt tiosianat dalam mengidentifikasi piroksikam dan fenilbutazon
2. Mengetahui proses imobilisasi membran poliamida dengan reagen spesifik
3. Mengetahui kinerja tes strip terhadap piroksikam dan fenilbutazon

1.5 Manfaat

Dapat memberikan informasi tentang proses dan hasil analisa kualitatif piroksikam dan fenilbutazon dalam jamu.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Obat Bahan Alam

Sesuai dengan Keputusan Kepala Badan POM RI No.00.05.4.2411 tahun 2004, berdasarkan cara pembuatannya serta jenis penggunaan dan tingkat pembuktian khasiat, obat bahan alam terbagi dalam 3 kelompok, yaitu:

1. Jamu

Jamu merupakan obat tradisional Indonesia yang digunakan secara turun temurun. Jamu biasanya terasa pahit dan memiliki bau kurang enak, namun banyak masyarakat yang percaya akan khasiat dari jamu (BPOM, 2005). Gambar 2.1 menunjukkan logo dari produk jamu.



Gambar 2.1 Logo Jamu (Sumber: BPOM RI, 2005)

Menurut keputusan kepala BPOM RI no HK.00.05.4.2411, jamu harus memenuhi kriteria:

- a. Aman sesuai dengan persyaratan yang telah ditetapkan
- b. Klaim khasiat dari jamu dibuktikan berdasarkan data empiris
- c. Memenuhi persyaratan yang berlaku

2. Obat Herbal Terstandar

Menurut Peraturan Kepala Badan POM RI no. HK.00.05.41.1384, Obat Herbal Terstandar adalah sediaan obat bahan alam yang keamanan dan

kehasiatnya telah dibuktikan secara ilmiah dengan uji praklinik (pada hewan) dan bahan bakunya telah di standarisasi. Obat Herbal Terstandar harus memenuhi kriteria:

- a. Aman sesuai dengan persyaratan yang ditetapkan
- b. Klaim khasiat dibuktikan secara ilmiah/praklinik (pada hewan)
- c. Bahan baku telah dilakukan standarisasi

(Keputusan BPOM, 2005)

Obat Herbal Terstandar umumnya sudah mengalami pemrosesan berupa ekstrak atau kapsul. Herbal yang sudah diekstrak, diteliti khasiat dan keamanannya melalui uji pra klinik (terhadap hewan) di dalam laboratorium. Disebut herbal terstandar karena telah diterapkan standar kandungan bahan, proses pembuatan ekstrak, higienitas, serta uji toksisitas untuk mengetahui ada tidaknya racun dalam herbal dalam proses pengujiannya dalam proses pengujiannya (Yuliarti, 2008). Logo obat herbal standar tertera pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 Logo Obat Herbal Terstandar (Sumber: BPOM RI, 2005)

3. Fitofarmaka

Fitofarmaka adalah sediaan obat bahan alam yang keamanan dan khasiatnya telah dibuktikan secara ilmiah dengan uji praklinik dan uji klinik, bahan baku dan produk jadinya telah di standarisasi dan fitofarmaka harus memenuhi kriteria:

- a. Aman sesuai dengan persyaratan yang telah ditetapkan
- b. Klaim khasiat harus dibuktikan berdasarkan uji klinik

- c. Telah dilakukan standarisasi terhadap bahan baku yang digunakan dalam produk jadi
- d. Memenuhi persyaratan mutu yang berlaku (BPOM, 2005)

Menurut Yuliarti (2008), fitofarmaka merupakan jamu dengan kasta tertinggi karena khasiat, keamanan serta standar proses pembuatan dan bahayanya telah diuji secara pra klinis dan klinis. Fitofarmaka sudah dijual di apotek-apotek dan sering diresepkan oleh dokter. Fitofarmaka dilambangkan dengan logo pada gambar 2.3.



Gambar 2.3 Logo Fitofarmaka (Sumber: BPOM RI, 2005)

2.2. Penyalahgunaan Obat dalam Industri Jamu

Obat tradisional merupakan salah produk Indonesia yang terbuat dari bahan alam dimana jenis dan sifat kandungannya sangat bermacam-macam sehingga untuk menjamin mutu obat tradisional diperlukan cara pembuatan yang baik dengan memperhatikan proses produksi dan penanganan bahan baku. Cara pembuatan obat tradisional yang baik meliputi semua aspek yang terlibat dalam proses pembuatan obat tradisional mulai bahan baku hingga produk jadi agar produk yang dihasilkan memenuhi persyaratan mutu yang telah ditetapkan sesuai dengan tujuan penggunaannya (BPOM, 2005).

Saat ini banyak produsen jamu yang tidak memperhatikan cara pembuatan obat tradisional dengan baik, bahkan melakukan kecurangan yaitu dengan mencampurkan bahan kimia obat ke dalam jamu dengan tujuan untuk mempercepat

dan mempertajam khasiatnya sehingga jamu lebih manjur dan mujarab. Adapun bahan kimia obat yang sering ditambahkan dalam jamu antara lain fenilbutazon, piroksikam, parasetamol, CTM, dan lain sebagainya. Padahal bahan kimia obat tersebut dapat menimbulkan dampak negatif yang membahayakan kesehatan.

Penggunaan fenilbutazon dalam jamu dapat menyebabkan agranulositosis yang cukup besar dan iritasi lambung, sedangkan penggunaan piroksikam menyebabkan kebocoran pada lambung dan usus. Apabila penggunaan fenilbutazon dan piroksikam dalam jumlah besar maka bisa menyebabkan kematian. Oleh karena itu pemerintah melarang penggunaan bahan kimia obat dalam jamu.

2.3 Piroksikam

Piroksikam adalah salah satu obat AINS (Anti Inflamasi Non Steroid) yang merupakan turunan dari oksikam. Secara umum piroksikam bersifat asam, mempunyai efek anti radang, analgesik, dan antipiretik (Siswandono, 1995). Piroksikam memiliki waktu paruh yang panjang yaitu 45 jam sehingga apabila sering diberikan maka akan terjadi penumpukan di dalam tubuh dan terjadi efek toksik dengan segala resikonya. Karena efeknya sangat kuat maka penggunaannya harus sesuai resep dokter dan tidak boleh sembarangan digunakan.

Namun, saat ini terjadi penyalahgunaan piroksikam yang menjadi bahan campuran obat tradisional. Piroksikam dalam campuran jamu digunakan untuk meringankan gejala osteoarthritis dan rheumatoid arthritis (Wilmana, 2007). Jamu yang mengandung piroksikam akan bekerja lebih cepat dalam menghilangkan rasa sakit, namun efek samping yang ditimbulkan dari piroksikam akan membahayakan kesehatan misalnya memicu kebocoran pada lambung dan usus.

2.3.1 Definisi dan Sifat Piroksikam

Menurut Departemen Kesehatan Republik Indonesia pada tahun 1995, piroksikam merupakan salah satu obat analgesik yang mempunyai waktu paruh yang panjang. Piroksikam mempunyai rumus kimia $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ dengan nama 4-

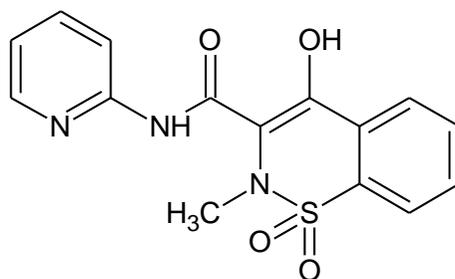
Hidroksi-2-metil-N-2-piridil-2H-1,2-benzoyiazin-3-karboksamida 1,1-dioksida. Sifat fisika kimia piroksikam tertera pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Sifat Fisika Kimia Piroksikam

Sifat	Piroksikam
Wujud	Padatan
Berat Molekul	331,35 g/mol
Warna	Putih
Titik Leleh	199 ⁰ C

Sumber: ScienceLab.com (2005)

Piroksikam (gambar 2.4) merupakan serbuk kristalin, tidak berbau, berasa pahit, dalam bentuk monohidrat berwarna kuning. Tidak larut dalam air, dalam asam encer dan sikloheksana, sedikit larut dalam metanol, etanol, isopropanol, dalam dimetil formamid dengan perbandingan 1:10, dimetilsulfoksid (1:50), aseton (1:50), etil asetat (1:80), kloroform (1:20), dan kelarutannya dalam larutan alkali (1:100) (Florey, 1986).



Gambar 2.4 Struktur Piroksikam (Sumber: Departemen Kesehatan RI, 1995)

2.3.2 Manfaat dan Efek Samping Piroksikam

Piroksikam merupakan salah satu turunan oksikam yang umumnya bersifat asam, yang mempunyai efek antiradang, analgesik dan antipiretik. Piroksikam menimbulkan efek samping iritasi saluran cerna yang cukup besar. Piroksikam dapat

diserap baik dalam saluran cerna dan 99% obat terikat pada protein plasma (Siswandono, 1995).

Efek samping lainnya yaitu tukak lambung, eritema kulit, sakit kepala, dan *tinitus*. Piroksikam tidak dianjurkan diberikan kepada wanita hamil dan pasien tukak lambung. Dosis pemakaian piroksikam yaitu mulai 10 mg sampai 20 mg sehari yang diberikan pada pasien (Wilmana, 2007).

2.3.3 Analisa Piroksikam

Piroksikam dapat dianalisa secara kualitatif dan kuantitatif. Analisa kuantitatif dapat dilakukan dengan beberapa metode diantaranya HPLC (*High Pressure Liquid Chromatography*) dan spektrofotometri, sedangkan untuk analisa kualitatif dapat menggunakan metode TLC (*Thin Layer Chromatography*) dan menggunakan reagen spesifik.

Analisa standar piroksikam menggunakan spektrofotometri pernah dilakukan oleh Azmi, *et al* (2009) menggunakan spektrofotometer Shimadzu UV-visible 1601, piroksikam dari Sigma Chemical Company, dan reagen *ferric sulphate*. Hasil analisa menunjukkan panjang gelombang optimum yaitu 504 nm, dimana pada panjang gelombang ini terbentuk kompleks antara reagen dengan piroksikam.

Selain itu, piroksikam dapat dianalisa menggunakan RP-HPLC dimana kolom yang digunakan yaitu Inertsil ODS-3V (150mm x 4.6mm) dengan kecepatan 0.8 ml/min, fasa gerak campuran antara methanol dengan buffer pH 3 dengan perbandingan 55:45 v/v, banyaknya volum yang diinjeksikan ke dalam kolom yaitu 10 µl, dan detektor PDA (*Photo Diode Array*) pada panjang gelombang 240 nm. Hasil analisa menunjukkan *retention time* piroksikam untuk menghasilkan puncak tertinggi yaitu selama 7,013 menit dengan luas area 100% (Kumar *et al*, 2010).

2.4 Fenilbutazon

Fenilbutazon merupakan obat AINS turunan pirazolon yang banyak digunakan untuk meringankan rasa nyeri yang berhubungan dengan rematik, penyakit

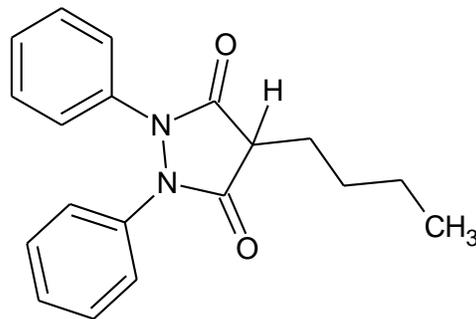
pirai dan sakit persendian. Fenilbutazon menimbulkan efek samping agranulositosis yang cukup besar dan iritasi lambung (Siswandono, 1995). Selain efek tersebut, fenilbutazon juga menyebabkan anemia aplastik. Efek-efek tersebut dapat menyebabkan kematian, sehingga penggunaan fenilbutazon harus dibatasi.

Namun, akhir-akhir ini banyak penyalahgunaan fenilbutazon sebagai bahan campuran dari obat tradisional. Pada tahun 2011, BPOM mengeluarkan daftar obat tradisional yang mengandung bahan kimia obat salah satunya mengandung fenilbutazon.

2.4.1 Sifat Fenilbutazon

Fenilbutazon mula-mula disintesis bukan digunakan sebagai obat, melainkan untuk digunakan sebagai pelarut bagi amidopirin yang sukar larut dalam air. Fenilbutazon merupakan asam dengan kekuatan sedang, dimana fenilbutazon tersebut memiliki kemampuan untuk membentuk garam misalnya dengan amin. Dalam pengobatan, disamping bentuk asam bebas juga digunakan terutama dalam bentuk garam natrium dan garam kalsium (Ebel, 1979).

Fenilbutazon (gambar 2.5) merupakan turunan pirazolon dengan rumus molekul $C_{19}H_{20}N_2O_2$, dengan nama kimia 4-butil-1,2-difenilpirazolidin-3,5-dion, berupa serbuk putih, sukar larut dalam air tetapi larut dalam etanol, memiliki titik lebur $104-107^{\circ}C$ (European Pharmacopoeia, 2005). Fenilbutazon merupakan antiradang non steroid yang banyak digunakan untuk meringankan rasa nyeri yang berhubungan dengan rematik, penyakit pirai dan sakit persendian (Siswandono, 1995).



Gambar 2.5 struktur fenilbutazon (Sumber: European Pharmacopoeia)

2.4.2 Efek Samping Fenilbutazon

Fenilbutazon mempunyai efek samping yang serius. Efek yang paling berbahaya adalah agranulositosis dan anemia aplastik yang dapat menyebabkan kematian. Fenilbutazon juga menyebabkan anemia hemolitik, sindrom nefrotik, neuritis optika, ketulian, keluhan reaksi alergi berat, dermatitis eksfoliativa serta nekrosis hati dan nekrosis tubulus ginjal.

Indikasi utama fenilbutazon apabila digunakan dalam jangka pendek akan menimbulkan keadaan nyeri seperti artritis gout akut dan tromboflebitis superficial. Fenilbutazon efektif dalam pengobatan serangan gout akut dengan dosis awal 400 mg dan dilanjutkan dengan 200 mg setiap jam setelah serangan mereda. Apabila fenilbutazon digunakan hanya sedikit maka efek samping yang ditimbulkan tidak berbahaya (Katzung, 1998).

2.4.3 Analisa Fenilbutazon

Metode analisis fenilbutazon antara lain gravimetri, titrasi oksidimetri, dan kolorimetri (Ebel, 1992). Metode titrasi dilakukan menggunakan pelarut aseton, dengan titran natrium hidroksida (NaOH) 0.1 normal dan indikator biru bromtimol yang menunjukkan perubahan warna dari kuning menjadi biru pada pH 5,8 sampai 7,4 (Roth, 1988).

Selain metode titrasi, analisa fenilbutazon dapat dilakukan sama halnya dengan piroksikam yaitu menggunakan HPLC namun kolom dan fasa geraknya berbeda dari piroksikam. Analisa fenilbutazon HPLC yang dilakukan oleh Jedziniak *et al* (2005), menggunakan kolom Inertsil ODS-2 dengan ukuran 150 mm x 4.6 mm, fasa gerak yang digunakan merupakan campuran antara asetonitril dengan asam asetat, kecepatan 1.2 ml/min flow dan detector UV-Vis pada panjang gelombang 240 nm.

2.5 Trend Teknik Analisis Kimia

Analisa kimia dapat dibedakan menjadi analisa kualitatif dan analisa kuantitatif. Analisa kualitatif biasanya digunakan untuk mengidentifikasi zat-zat yang ada dalam suatu sampel baik kation ataupun anion, sedangkan analisa kuantitatif biasanya digunakan untuk menghitung jumlah suatu zat dalam sampel. Teknik analisa kualitatif diantaranya TLC (*Thin Layer Chromatography*), uji bercak, dan reaksi dengan reagen spesifik, sedangkan teknik analisa kuantitatif diantaranya titrasi, spektrofotometri, dan HPLC.

Teknik analisa kimia semakin lama semakin berkembang. Metode analisa yang telah dikembangkan secara kualitatif yaitu test strip. Test strip merupakan alat diagnotis dasar yang digunakan untuk menentukan perubahan patologis dalam analisis. Test strip merupakan teknik analisa kualitatif yang lebih sederhana dan lebih mudah dalam proses analisis.

Penggunaan test strip saat ini sudah tidak asing lagi, bahkan sudah terkenal dikalangan masyarakat. Berbagai macam tes strip yang digunakan yaitu test strip kehamilan, test strip urin, test strip glukosa, test strip diabetes, dan test strip asam urat. Test strip ini banyak disukai karena pemakaiannya yang praktis dan mudah didapat. Test strip akan mengalami perubahan warna yang spesifik apabila sampel yang diujikan sudah bereaksi dengan reagen spesifik yang ada dalam test strip tersebut. Dengan adanya perubahan warna tersebut mempermudah kita dalam proses analisis.

2.6 Test Strip

Test strip merupakan alat pendeteksi sederhana untuk menentukan perubahan patologis dalam analisis standar. Penggunaan test strip sangat mudah cukup meneteskan atau mencelupkan sampel pada permukaan strip dan dengan sendirinya akan terjadi reaksi antara strip yang berisi reagen spesifik dengan sampel yang diteteskan. Reaksi antara reagen spesifik dengan sampel akan menunjukkan perubahan warna yang spesifik, salah satu contoh merk test strip yaitu **Merckoquant®** yang memberikan perubahan warna spesifik seperti pada gambar 2.6.



Gambar 2.6 Cara Penggunaan Test Strip (Sumber: www.merckmillipore.co.id/test-strip-merckoquant-/c_Y_Ob.s1OpO0AAAE1A41tk03)

Test strip memiliki beberapa kelebihan dibanding alat pendeteksi yang lain yaitu memberikan respon yang cepat sekitar 60 dan 120 detik setelah direaksikan dengan sampel, mudah dilakukan, hemat biaya dan waktu. Test strip biasanya terdiri dari beberapa strip atau pita yang terbuat dari membran yang di dalamnya sudah ada reagen spesifik. Berdasarkan tujuannya test strip ada 2 macam yaitu:

- a. Test strip uji kualitatif yang digunakan untuk mendeteksi apakah sampel yang diuji bereaksi positif atau bereaksi negative dengan reagen spesifik dalam strip.

- b. Test strip uji semikuantitatif, selain digunakan untuk mendeteksi adanya perubahan warna pada test strip, warna yang dihasilkan oleh strip sebanding dengan konsentrasi zat yang ada dalam sampel

(Anonim, 2012)

Test strip yang dikembangkan tidak hanya untuk mendeteksi kadar glukosa saja, namun ada beberapa test strip yang dikembangkan untuk mendeteksi pH, kehamilan, logam berat, ammonia, fosfat dan narkotika. Test strip semakin terkenal karena mudah digunakan dan memiliki keakuratan yang cukup tinggi (Morris, 2002).

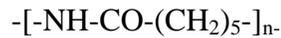
2.7 Membran Poliamida

Kata membran berasal dari bahasa latin yaitu “membrana” yang berarti kulit kertas. Membran merupakan penghalang selektif antara dua fase yaitu fase umpan dan fase permeat. Membran dapat berfungsi sebagai media pemisahan yang selektif berdasarkan perbedaan muatan listrik atau perbedaan kelarutan (Mulder, 1996).

Jenis membran bermacam-macam, salah satunya yaitu membran poliamida yang merupakan polimer yang memiliki gugus amida (-CONH-). Berdasarkan strukturnya poliamida dapat diklasifikasikan kedalam dua jenis yaitu poliamida aromatik dan poliamida alifatik. Bidang poliamida aromatik lebih disukai dibanding poliamida alifatik karena memiliki kestabilan mekanik, termal, kimia dan hidrolisis yang baik (Stevens, 1989).

Sifat-sifat poliamida aromatik ditentukan oleh gugus aromatik pada rantai utama yang dapat menurunkan *fleksibilitas* rantai. Poliamida aromatik mempunyai temperatur gelas 280°C, lebih tinggi dibandingkan dengan poliamida alifatik yang hanya 100°C (Wenten, 2000). Nilon-6 memiliki sifat fisik yang baik diantaranya adalah memiliki kekuatan mekanik yang kuat dan elastisitas yang tinggi. Sifat kimia yang dimiliki nilon-6 antara lain adalah tidak dapat dioksidasi atau direduksi tetapi dapat larut terhadap klorida. Nilon 6 terbuat dari senyawa kaprolaktom, pada ujung polimer nilon terapat gugus amino (NH₂) dan karboksilat (COOH) dan gugus

penghubungnya yaitu gugus amida (-CONH-). Struktur nilon-6 ditunjukkan seperti gambar 2.7.



Gambar 2.7 struktur nilon 6
Sumber : Mark, 1999

2.8 Reagen spesifik

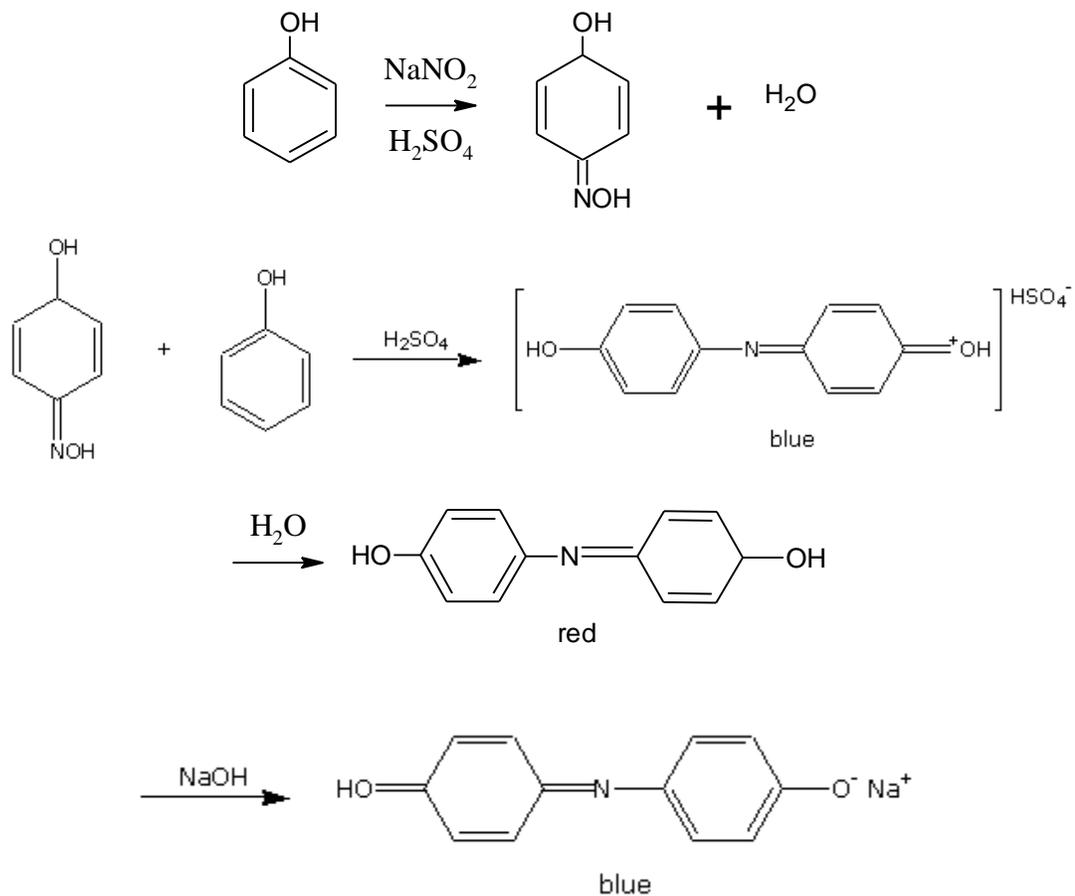
Reagen spesifik adalah reagen yang mampu menunjukkan perubahan warna spesifik apabila bereaksi dengan zat tertentu. apabila warna sudah terbentuk, artinya terjadi reaksi yang positif antara zat dengan reagen spesifiknya. Reagen spesifik tidak dapat bereaksi dengan semua zat, hal ini karena setiap zat memiliki reagen spesifik yang berbeda-beda dan warna yang dihasilkan juga berbeda.

Sinar putih yang melewati larutan yang berisi ion logam transisi maka sinar tersebut akan diserap ataupun dipantulkan oleh larutan tersebut. Ion logam transisi berwarna karena adanya orbital d yang belum terisi penuh, sehingga menyebabkan orbital d tersebut dapat menyerap cahaya dan mengalami eksitasi dari orbital d yang berenergi rendah ke orbital d yang berenergi lebih tinggi. Warna yang ditangkap oleh indra penglihatan adalah warna komplementer dari warna yang diabsorpsi. Selain itu perubahan warna juga merupakan salah satu contoh dari reaksi reduksi dan oksidasi.

Warna yang spesifik mempermudah proses analisa sehingga banyak peneliti yang menganalisa suatu zat menggunakan reagen spesifik, salah satunya Vienna. Pada tahun 1994, Vienna meneliti beberapa obat dengan reagen spesifik antara lain opium yang direaksikan dengan reagen Marquis menghasilkan warna ungu, cocain yang direaksikan dengan kobalt tiosianat menghasilkan warna biru, morfin akan membentuk warna orange yang berubah dengan cepat menjadi merah dan perlahan-lahan menjadi kuning apabila bereaksi dengan reagen asam nitrit, dan amfetamin yang membentuk warna coklat apabila bereaksi dengan reagen Marquis.

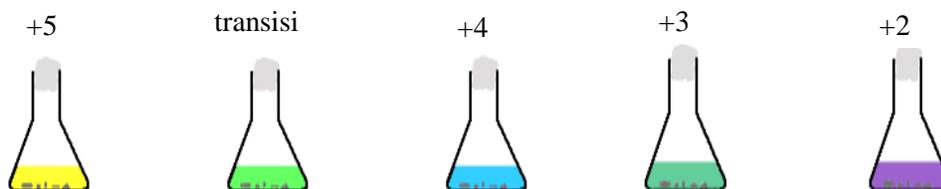
Reagen spesifik sangat membantu dalam proses analisa, baik secara kualitatif maupun kuantitatif, sehingga penelitian ini juga menggunakan reagen spesifik.

Reagen yang digunakan yaitu liberman, mandelin, feri amonium sulfat, tembaga asetat dan kobalt tiosianat. Reaksi reagen liberman terdiri dari natrium nitrit dengan asam sulfat, salah satu contoh reaksi reagen liberman dengan senyawa fenol yaitu sebagai berikut:



Gambar 2.8 Mekanisme reaksi antara reagen liberman dengan fenol

Reagen mandelin merupakan reagen yang terdiri dari amonium metavanadat dengan asam sulfat. Apabila suatu senyawa direaksikan dengan reagen mandelin dan menimbulkan perubahan warna, hal ini disebabkan dari adanya reaksi reduksi maupun oksidasi dari ion vanadium, seperti berikut:

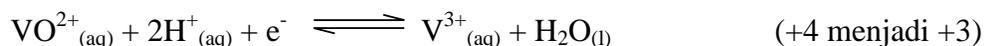


Gambar 2.9 Perubahan warna dari bilangan oksidasi +5,+4,+3,+2 vanadat (Clark, 2003)

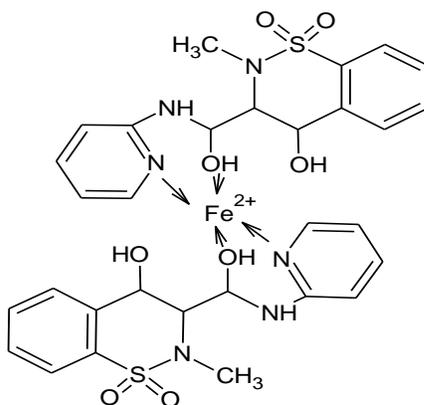
Warna kuning merupakan ion vanadium(V) dan mengalami reduksi menjadi tingkat vanadium(IV) yang berwarna biru. Sedangkan warna hijau adalah fasa transisi atau campuran dari warna kuning vanadium(V) dan warna biru vanadium(IV).



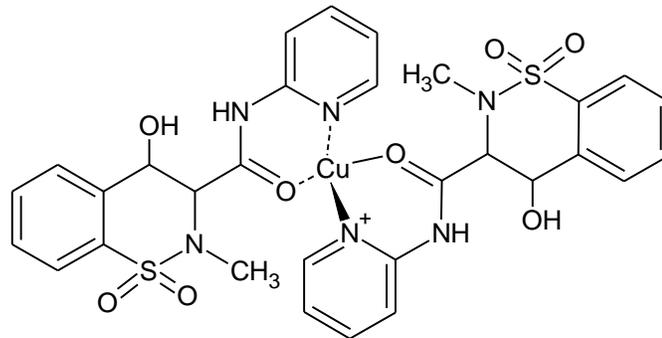
Reaksi reduksi ion vanadium(IV) menjadi ion vanadium(III) yang berwarna hijau (gambar 2.9) dan menjadi vanadium(II) yang berwarna ungu adalah sebagai berikut :



Sedangkan reagen feri amonium sulfat dan reagen tembaga asetat terdiri dari logam transisi yaitu Fe^{3+} dan Cu^{2+} . Hasil reaksi antara Fe^{3+} dan Cu^{2+} dengan piroksikam berturut-turut yaitu:



Gambar 2.10 reaksi kompleks ion Fe^{3+} dengan piroksikam
Sumber: Lutfullah *et al*, 2010



Gambar 2.11 reaksi kompleks ion Cu^{2+} dengan piroksikam
Sumber: Prafulla M Sabale (2012)

Reaksi kompleks terdiri dari atom pusat dan ligan dimana atom pusat berfungsi sebagai asam karena menerima pasangan elektron dari ligan sedangkan yang berfungsi sebagai ligan yaitu piroksikam dan fenilbutazon merupakan basa karena memberikan pasangannya kepada atom pusat.

2.8 Spektrofotometri Reflektan

Spektrofotometer sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spectrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu, sedangkan fotometer merupakan alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi secara relative jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang (Khopkar, 1990).

Cara kerja spektrofotometer sebagai berikut:

- Tempatkan larutan pembanding, misal blanko dalam sel pertama sedangkan larutan yang akan dianalisis pada sel kedua
- Pilih fotosel yang sesuai 200 nm-650 nm (650 nm-1100 nm) agar daerah λ yang diperlukan dapat terliputi

- c. Ruang fotosel dalam keadaan tertutup “nol” galvanometer dengan menggunakan tombol *dark-current*
- d. Pilih λ yang diinginkan, buka fotosel dan lewatkan berkas cahaya pada blanko dan “nol” galvanometer diperoleh dengan cara memutar tombol sensitivitasnya
- e. Dengan menggunakan transmitansi, kemudian atur besarnya pada 100%
- f. Lewatkan berkas cahaya pada larutan sampel yang akan dianalisis
- g. Skala absorbansi akan menunjukkan angka merupakan skala absorbansi dari sampel yang diukur

(Khopkar, 1990)

Sebuah penggabungan untuk melakukan pengukuran reflektansi tersedia untuk spektrofotometri standar. Pada sinar putih, masing-masing komponen monokromatisnya dari semua panjang gelombang mempunyai intensitas yang sama, sehingga kurva spectra reflektansinya berupa garis horizontal, dimana titik potongnya dengan sumbu vertikalnya ditentukan oleh kecerahan sampel. Spektroskopi reflektansi berguna untuk mengukur sampel berwarna yang tidak larut pada bermacam pelarut (Khopkar, 1990).

Pada proses pemantulan dan pembiasan, cahaya dapat terpolarisasi sebagian atau seluruhnya oleh refleksi. Perbandingan intensitas cahaya yang dipantulkan dengan cahaya datang disebut dengan reflektansi (R), sedangkan perbandingan intensitas cahaya yang ditransmisikan dengan cahaya yang datang disebut transmitansi (T) (Pedrotti, 1993).

Reflektansi (R) didefinisikan sebagai perbandingan antara intensitas pemantulan dengan intensitas sumber seperti persamaan 2.1.

$$R = \frac{I_r \cos \theta}{I_o \cos \theta}$$

$$R = \frac{I_r}{I_o} \dots \dots \dots (2.1)$$

Dimana: R: Refelktansi

I_r : Intensitas sinar yang dipantulkan

I_0 : Intensitas sumber cahaya

Hubungan nilai reflektansi dengan konsentrasi dapat diketahui berdasarkan pada persamaan 2.2.

$$A = -\log R$$

$$\epsilon \cdot b \cdot c = -\log R \dots\dots\dots (2.2)$$

Dimana: A: Absorbansi

ϵ : Absortivitas molar ekstinsi

b: Ketebalan medium

c: Konsentrasi analit

(Shannon, 1998)

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Pelaksanaan kegiatan penelitian berlangsung di laboratorium Kimia Analitik, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember. Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2012 hingga Februari 2013.

3.2 Alat dan Bahan

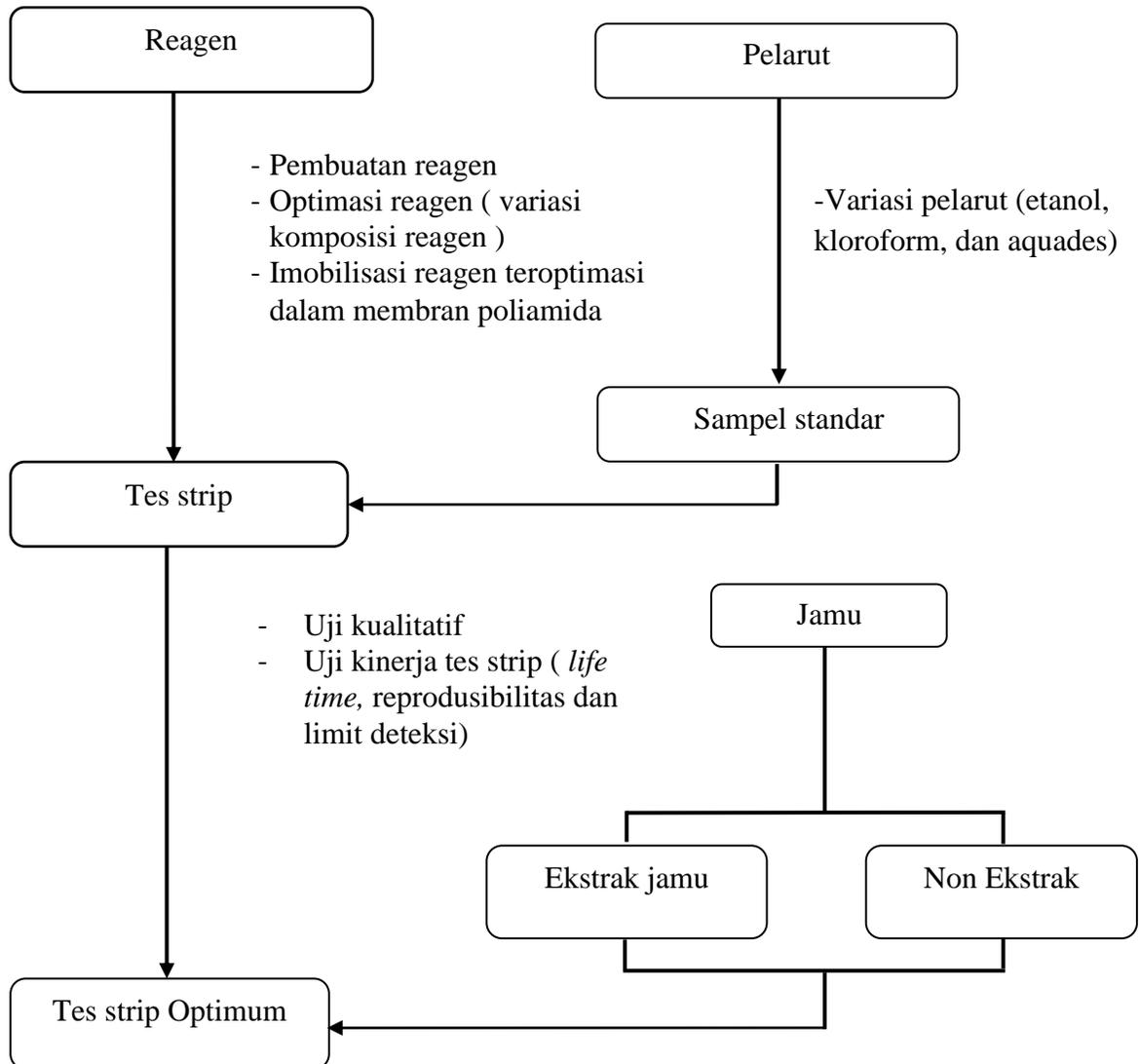
3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas kimia, pipet tetes, pipet Mohr, labu ukur, gelas ukur, labu erlenmeyer, spatula, kertas saring Whatman no. 41, pengaduk, botol, corong, plat tetes, ball pipet, botol semprot, stirrer magnet, spektroskopi reflectance, hotplate, neraca analitis OHAUS AP310-0 dan kamera digital SONY 16,1 MP.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu benang nilon merk Owl Crown, asam klorida (HCl) 37% dari Merck, aquades (H₂O), etanol (C₂H₅OH) 96% Merck, kloroform (CHCl₃) Merck, asam sulfat (H₂SO₄) 95-97% Merck, feri amonium sulfat (Fe(NH₄)(SO₄)₂) Merck, tembaga asetat (Cu(CH₃COO)₂), kobalt tiosianat (Co(SCN)₂) Merck, fenilbutazon, piroksikam dan sampel jamu.

3.3 Diagram Alir Penelitian



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan Reagen

Reagen yang digunakan dalam penelitian ini yaitu mandelin, liberman, feri amonium sulfat, kobalt tiosianat, dan tembaga asetat. Reagen-reagen tersebut diuji terlebih dahulu, kemudian dilakukan pemilihan reagen yang mampu menghasilkan perubahan warna setelah direaksikan dengan sampel dan dilakukan optimasi komposisi reagen.

a. Reagen Mandellin

Pembuatan reagen mandellin mengacu pada NIJ (2000) yang dibuat dengan cara melarutkan ammonium vanadat (NH_4VO_3) dalam 100 ml asam sulfat dengan berbagai macam variasi konsentrasi H_2SO_4 sesuai tabel 3.1.

Tabel 3.1 Variasi komposisi reagen mandellin

Volum H_2SO_4	Konsentrasi H_2SO_4	Massa NH_4VO_3
100 ml	5 M	1 g
100 ml	6 M	1 g
100 ml	7 M	1 g

b. Reagen Libermann

Reagen libermann dibuat dengan melarutkan natrium nitrit (NaNO_2) dalam asam sulfat (Vienna, 1994) dengan variasi konsentrasi H_2SO_4 seperti tabel 3.2.

Tabel 3.2 Variasi komposisi reagen libermann

Volum H_2SO_4	Konsentrasi H_2SO_4	Massa NaNO_2
10 ml	5 M	1 g
10 ml	6 M	1 g
10 ml	7 M	1 g

c. Reagen feri amonium sulfat

Reagen dibuat dengan cara melarutkan kristal feri amonium sulfat ($\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$) kedalam 100 ml aquades dengan variasi massa $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$ yaitu:

Tabel 3.3 Variasi komposisi reagen feri amonium sulfat

Massa $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$	Volum aquades
8 g	100 ml
16 g	100 ml
24 g	100 ml

(US. Pharmacopeia, 2008)

d. Reagen Kobalt Tiosianat

Pembuatan reagen mandellin mengacu pada NIJ (2000) yang dibuat dengan cara melarutkan kobalt tiosianat dalam 100 ml aquademin dengan variasi massa kobalt tiosianat seperti tabel 3.4

Tabel 3.4 Variasi komposisi reagen kobalt tiosianat

Massa $\text{Co}(\text{SCN})_2$	Volum aquademin
2 g	100 ml
4 g	100 ml
6 g	100 ml

e. Reagen Tembaga Asetat

Reagen $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ dibuat dengan melarutkan $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ dalam CH_3COOH dan aquades hingga volum total 500 ml dengan variasi massa seperti tabel 3.5.

Tabel 3.5 Variasi komposisi reagen $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$

Massa $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$	Volum CH_3COOH	Volum Total
33 g	5 ml	500 ml
66 g	5 ml	500 ml
99 g	5 ml	500 ml

3.4.2 Optimasi Reagen

Optimasi reagen dilakukan untuk mengetahui perubahan warna yang terbaik yaitu dengan adanya warna yang mencolok. Optimasi reagen dilakukan dengan mereaksikan sampel standar yaitu piroksikam dan fenilbutazon dengan reagen yang sudah divariasikan konsentrasinya. Proses optimasi reagen dilakukan dalam plat tetes. Selanjutnya dilakukan pencatatan data dan dokumentasi berupa perubahan warna dan waktu yang dibutuhkan.

3.4.3 Uji Kelayakan Pelarut Sampel

Uji kelayakan pelarut sampel digunakan untuk mengetahui warna yang terbaik diantara berbagai macam pelarut. Uji kelayakan pelarut dilakukan dengan menimbang sampel standar yaitu fenilbutazon dan piroksikam sebanyak 50 mg dilarutkan dalam 10 ml pelarut (kloroform, aquades, dan etanol) kemudian diambil masing-masing 0,05 ml sampel standar dan direaksikan dengan 0,05 ml reagen dalam plat tetes. Selanjutnya dilakukan pencatatan data dan dokumentasi berupa perubahan warna. Hasil reaksi reagen dan sampel dengan pelarut yang terbaik (mencolok perubahan warnanya) dipergunakan untuk eksperimen selanjutnya.

3.4.4 Optimasi dan Imobilisasi Reagen dalam Membran Poliamida

Proses immobilisasi reagen dilakukan secara *entrapment* dan adsorpsi. Proses *entrapment* dilakukan dengan cara melarutkan 10 gram benang nilon dalam 20 mL pelarut yang mengandung HCl 37% dan ditambahkan reagen yang sudah teroptimasi kemudian diaduk dengan stirrer sampai homogen. Larutan didiamkan untuk menghilangkan gelembung, kemudian dicetak pada kaca yang pinggirannya sudah diberi selotip dan dimasukkan dalam bak koagulasi. Membran yang sudah jadi dipotong kecil dengan ukuran 1x1 cm dan dihasilkan tes strip. Sedangkan proses adsorpsi dilakukan dengan cara melarutkan 10 gram benang nilon dalam 20 ml HCl 37% dan diaduk dengan stirrer hingga homogen. Larutan didiamkan hingga gelembung hilang, kemudian dicetak pada kaca. Membran yang sudah jadi dipotong

kecil dan kemudian dimasukkan dalam reagen untuk proses adsorpsi selama beberapa jam dan terbentuklah tes strip.

3.4.5 Uji Kualitatif Tes Strip

Uji kualitatif test strip diawali dengan mengambil larutan standar sampel yaitu piroksikam dan fenilbutazon dengan konsentrasi 5 mg/ml. Pengujian dilakukan dengan meneteskan sampel pada tes strip dan dilakukan pencatatan data berupa perubahan warna pada tes strip. Perubahan warna didokumentasikan menggunakan kamera digital.

3.4.6 Uji Kinerja Tes Strip

a. Limit Deteksi

Limit deteksi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terkecil dari sampel yang masih dapat dideteksi. Limit deteksi ditetapkan dengan menyiapkan tes strip dengan komposisi optimum, dilanjutkan dengan meneteskan larutan sampel standar dari konsentrasi 5 mg/ml sampai batas konsentrasi terkecil dan dilakukan pencatatan data berupa perubahan warna. Secara kuantitatif limit deteksi dapat dihitung dengan rumus (Miller dan Miller, 1993):

$$S_B = \sqrt{\frac{\sum(y - \hat{y})^2}{n-2}}$$

$$Y_{LOD} = \gamma_B + 3S_B$$

$$X_{LOD} = \frac{Y_{LOD} - c}{m}$$

Keterangan:

y = nilai reflektan (log 1/R)

\hat{y} = nilai semua titik pada garis regresi yang berpadanan dengan x

n = banyaknya pengukuran

$\gamma_B=c$ = intersep kurva standar

S_B = standar deviasi blanko

X_{LOD} = konsentrasi limit deteksi

m = slope kurva standar

b. Penentuan Reprodusibilitas

Reprodusibilitas merupakan salah satu parameter yang menjadi acuan dalam analisis suatu bahan. Reprodusibilitas merupakan kepresisian suatu hasil pengukuran dari alat tertentu. Pengujian reprodusibilitas dari sebuah alat dapat dilakukan dengan melakukan satu series pengukuran dengan tempat atau waktu yang berbeda (Caulcutt & Boddy, 1983).

Uji reprodusibilitas diawali dengan membuat tiga tes strip dengan komposisi optimum pada waktu yang berbeda dan tiap tes strip diukur reflektansinya secara triplo. Selanjutnya dilakukan pencatatan dan perhitungan data dengan rumus.

$$SD = \sqrt{\frac{\sum |x - \bar{x}|^2}{n - 1}}$$

Hasil kepresisiannya dihitung dengan rumus:

$$Kv = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

c. Life Time tes strip

Uji *life time* tes strip dilakukan untuk mengetahui daya tahan reagen didalam membran sebelum digunakan. Uji ini dilakukan dengan cara meneteskan masing-masing tes strip dengan sampel standar dan dilihat perubahan warnanya. Uji *life time* dilakukan selama 1 minggu atau lebih hingga test strip tidak mampu memberikan perubahan warna dan data yang dihasilkan didokumentasikan menggunakan kamera.

3.4.7 Preparasi Analit dalam Sampel Jamu

Pengujian analit dilakukan mengikuti prosedur yang sama dengan pengujian pelarut. Dalam hal ini, analit dipersiapkan dengan cara melarutkan 5 gram sampel jamu ke dalam 100 mL pelarut. Selanjutnya, dilakukan penyaringan dengan kertas saring Whatman 41. Bagian filtrat diambil dan siap untuk diidentifikasi menggunakan test strip.

3.4.8 Uji Tes Strip dengan Larutan Standar Konsentrasi Tinggi

Uji tes strip dengan larutan standar konsentrasi tinggi real merupakan pengujian test strip dengan sampel standar yang konsentrasinya semakin ditinggikan. Uji ini digunakan untuk mengetahui hasil perubahan warna pada tes strip. Kemudian, dilakukan uji dengan beberapa analit jamu dan dilihat perubahan warna yang terjadi pada test strip tersebut.

BAB 4. PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan kajian kelayakan pengembangan prototype tes strip untuk uji kualitatif sampel piroksikam dan fenilbutazon. Bahan dasar tes strip adalah membran yang dibuat menggunakan bahan dasar nilon 6 yang teknik preparasinya mengacu pada penelitian Agenk (2012). Imobilisasi bahan aktif untuk mengidentifikasi sampel piroksikam dan fenilbutazon menggunakan reagen liberman, mandelin, kobalt tiosianat, feri amonium sulfat, dan tembaga asetat. Proses imobilisasi reagen kedalam membran menggunakan imobilisasi *entrapment* dan adsorpsi dari teknik yang dikembangkan oleh Praswati, *et al* (2009) dalam reaksi hidrolisis minyak zaitun menggunakan lipase *Rhizopus oryzae* yang diimobilisasi melalui metode adsorpsi.

Kinerja prototype tes strip diawali dengan melakukan uji kelayakan pelarut dan variasi komposisi reagen. Perlakuan ini selanjutnya dipergunakan untuk mengembangkan prototype tes strip dengan cara mengimobilisasi reagen ke dalam membran. Tes strip tersebut diuji kinerjanya berupa limit deteksi, reproduibilitas, dan *life time*.

4.1 Uji Kelayakan Pelarut

Uji kelayakan pelarut digunakan untuk mengetahui efektifitas penggunaan pelarut seperti air, etanol, dan kloroform dalam menyiapkan sampel piroksikam dan fenilbutazon. Pengujian dilakukan dengan teknik *color spot test* yaitu meneteskan sampel atau larutan standar ke dalam reagen.

4.1.1 Sampel Standar Piroksikam

Standar piroksikam sebanyak 50 mg dilarutkan dalam masing-masing 10 ml pelarut yaitu air, etanol dan kloroform. Ketiga larutan standar selanjutnya direaksikan dengan lima jenis reagen yaitu liberman, mandelin, feri amonium sulfat, kobalt tiosianat dan tembaga asetat.

Hasil reaksi antara larutan standar piroksikam 5 mg/ml dengan reagen liberman, tidak menunjukkan perubahan warna baik dalam pelarut air, etanol, maupun kloroform. Hal ini berbeda jika piroksikam berupa serbuk yang ditambahkan ke dalam reagen, hasil reaksi menunjukkan perubahan warna hijau kuning seperti pada tabel 4.1 dan piroksikam harus dalam serbuk agar bisa bereaksi dengan liberman, oleh karena itu reagen liberman tidak dapat digunakan dalam penelitian ini, karena piroksikam yang akan dianalisis dalam bentuk larutan bukan dalam bentuk serbuk. Dalam literatur disebutkan bahwa hasil reaksi perubahan warna antara reagen liberman dengan piroksikam yaitu kuning (Clarke, 2003) namun hasil penelitian menunjukkan perubahan warna hijau kekuningan, hal ini dimungkinkan kurang banyaknya jumlah reagen ataupun piroksikam yang direaksikan.

Tabel 4.1 Perubahan warna piroksikam dalam berbagai pelarut dengan reagen

Reagen	Sebelum bereaksi	Perubahan warna setelah bereaksi dengan piroksikam 5mg/ml menggunakan pelarut			Piroksikam serbuk
		air	ethanol	Chloroform	
Liberman					

Hal ini berbeda dengan reagen mandelin, yang mampu menunjukkan perubahan warna setelah ditetesi sampel dengan pelarut etanol, perubahan warna ini terjadi karena bilangan oksidasi dari vanadium +5 yang memberikan warna kuning seperti pada penjelasan gambar 2.9. Untuk reagen feri amonium sulfat, hasil reaksi

menunjukkan perubahan warna untuk mengidentifikasi piroksikam yang dilarutkan menggunakan etanol. Hal yang sama juga diamati oleh Lutfullah *et al* (2010), perubahan warna yang terjadi disebabkan oleh adanya reaksi kompleks antara ion Fe^{3+} dengan piroksikam seperti gambar 2.8 (Lutfullah *et al*, 2010).

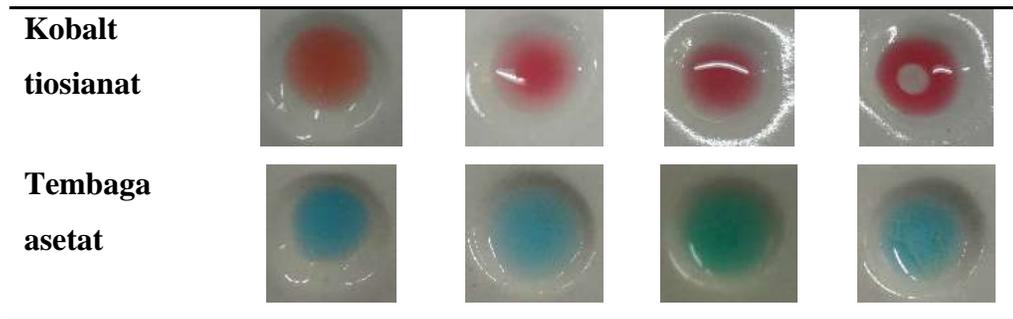
Reagen kobalt tiosianat juga tidak memberikan perubahan warna untuk mengidentifikasi piroksikam baik menggunakan pelarut air, etanol maupun kloroform. Perubahan warna tidak terjadi karena kobalt tiosianat tidak mengalami reaksi kompleks maupun reaksi oksidasi reduksi. Hal ini berbeda jika reagen kobalt tiosianat direaksikan dengan cocain akan menghasilkan perubahan warna merah menjadi biru (Viena, 1994).

Sedangkan untuk reagen tembaga asetat memberikan perubahan warna untuk mengidentifikasi piroksikam. Terjadinya reaksi perubahan warna menggunakan pelarut etanol, perubahan warna terjadi secara kasat mata dari biru menjadi warna hijau. Reaksi perubahan warna terjadi karena terbentuknya kompleks antara piroksikam dengan ion Cu^{2+} seperti terlihat pada gambar 2.9.

Hasil reaksi untuk ketiga jenis reagen dengan larutan standar piroksikam yang dilarutkan ke dalam tiga jenis pelarut disederhanakan seperti tabel 4.2.

Tabel 4.2 Perubahan warna piroksikam dalam berbagai pelarut dengan reagen

Reagen	Sebelum bereaksi	Perubahan warna setelah bereaksi dengan piroksikam menggunakan pelarut		
		air	etanol	Chloroform
Mandelin				
Feri amonium sulfat				



4.1.2 Sampel Standar Fenilbutazon

Sampel standar fenilbutazon sebesar 5 mg/ml yang dilarutkan ke dalam masing-masing pelarut yaitu air, etanol, dan kloroform, kemudian direaksikan dengan reagen liberman, mandelin, feri amoniim sulfat, kobalt tiosianat, dan tembaga asetat. Penggunaan reagen liberman harus dipanaskan terlebih dahulu sebesar 100 °C, kemudian direaksikan dengan sampel fenilbutazon berupa serbuk agar hasil reaksi warna yang dihasilkan sesuai dengan referensi. Hasil penelitian reaksi reagen liberman dengan fenilbutazon berwarna oranye kecoklatan (Tabel 4.3) karena adanya 2 cincin benzen yang berdekatan (Clarke, 2003) dalam struktur fenilbutazon seperti pada gambar 2.5.

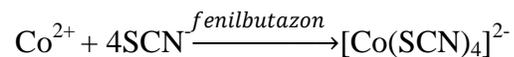
Tabel 4.3 Perubahan warna fenilbutazon dalam berbagai pelarut dengan reagen

Reagen	Sebelum bereaksi	Perubahan warna setelah bereaksi dengan fenilbutazon menggunakan pelarut			Fenilbutazon serbuk
		air	etanol	Chloroform	
Liberman					

Reagen mandelin menunjukkan hasil reaksi yaitu terjadinya perubahan warna pada fenilbutazon yang menggunakan pelarut etanol seperti pada penjelasan gambar 2.9. Perubahan warna antara reagen mandelin dengan sampel fenilbutazon dan

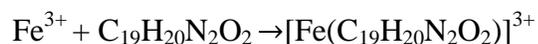
piroksikam sama-sama menghasilkan warna kuning, oleh karena itu reagen mandelin tidak dapat digunakan, karena tidak dapat membedakan kedua obat tersebut.

Reagen kobalt tiosianat menunjukkan hasil reaksi untuk mengidentifikasi fenilbutazon yang menggunakan pelarut etanol. Warna berubah dari merah menjadi ungu, hal ini menunjukkan bahwa ion kobalt awalnya bereaksi dengan air membentuk kompleks ion heksaakuokobalt(II), setelah ditambah fenilbutazon muncul warna ungu karena terbentuk kompleks antara ion Co^{2+} dengan fenilbutazon yaitu kompleks ion tetratiosianatokobaltat(II) seperti reaksi hipotetik Gambar 4.1:



Gambar 4.1 Reaksi hipotetik Co^{2+} dengan fenilbutazon

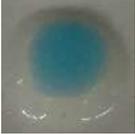
Reagen feri amonium sulfat, menunjukkan hasil reaksi perubahan warna dari kuning transparan menjadi kuning dalam pelarut etanol. Perubahan warna ini disebabkan oleh terbentuknya kompleks Fe(fenilbutazon) dengan reaksi hipotetik Gambar 4.2:



Gambar 4.2 Reaksi hipotetik Fe^{3+} dengan fenilbutazon

Sedangkan hasil reaksi reagen tembaga asetat dengan fenilbutazon tidak menunjukkan perubahan warna dalam ketiga pelarut tersebut. Perubahan warna tidak terjadi karena fenilbutazon tidak mengalami reaksi kompleks ataupun reaksi oksidasi reduksi dengan tembaga. Hasil reaksi untuk kelima jenis reagen dengan larutan standar fenilbutazon yang dilarutkan ke dalam tiga jenis pelarut disederhanakan ke dalam tabel 4.4.

Tabel 4.4 Perubahan warna fenilbutazon dalam berbagai pelarut dengan reagen

Reagen	Sebelum bereaksi	Perubahan warna setelah bereaksi dengan fenilbutazon menggunakan pelarut		
		air	ethanol	Chloroform
Mandelin				
Feri amonium sulfat				
Kobalt tiosianat				
Tembaga asetat				

Hasil reaksi ini menunjukkan bahwa sampel standar piroksikam dan fenilbutazon dapat mengalami perubahan warna dalam pelarut etanol baik untuk reagen mandelin, kobalt tiosianat, feri amonium sulfat maupun reagen tembaga asetat. Hal ini karena pelarut etanol mampu memediasi terjadinya reaksi warna antara obat dengan reagen. Namun demikian, uji kelayakan pelarut ini dikompromikan dengan hasil penelitian berikutnya yaitu efek variasi komposisi reagen.

4.2 Variasi Konsentrasi Reagen

Pembuatan variasi konsentrasi reagen untuk mengetahui perubahan warna yang paling terang saat kelima reagen direaksikan dengan standar baik proksikam maupun fenilbutazon dalam pelarut etanol. Variasi untuk reagen liberman dan mandelin dalam hal variasi konsentrasi asam sulfat yaitu 5, 6 dan 7 M, sedangkan

variasi konsentrasi reagen kobalt tiosianat, feri amonium sulfat, dan tembaga asetat dilakukan dengan konsentrasi dari tiap-tiap reagen 1x, 2x, dan 3x. Variasi konsentrasi 1x sesuai standar pembuatan reagen, variasi konsentrasi 2x yaitu 2x konsentrasi dari standar pembuatan reagen, dan variasi komposisi 3x yaitu 3x konsentrasi dari standar pembuatan reagen. Konsentrasi sampel yang digunakan yaitu sebesar 5mg/ml.

4.2.1 Reagen Liberman

Pembuatan reagen liberman seperti pada tabel 3.4 dimana reagen liberman terdiri dari natrium nitrit (NaNO_2) dan asam sulfat (H_2SO_4). Hasil reaksi menunjukkan tidak adanya perubahan warna antara reagen liberman dengan sampel baik piroksikam maupun fenilbutazon. Perubahan warna tidak terjadi karena dimungkinkan konsentrasi dari pelarut reagen yaitu H_2SO_4 dibawah standar pembuatan reagen. Penggunaan konsentrasi H_2SO_4 dibawah standar dalam penelitian ini karena untuk mengetahui hasil perubahan warna jika H_2SO_4 variasikan 5, 6, dan 7 M. Hasil reaksi perubahan warna antara piroksikam dan fenilbutazon dengan reagen liberman disederhanakan seperti tabel 4.5.

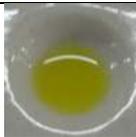
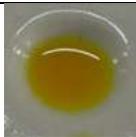
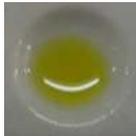
Tabel 4.5 Perubahan warna piroksikam dan fenilbutazon dengan reagen liberman dalam beberapa konsentrasi

Sampel	Sebelum bereaksi	Perubahan warna setelah bereaksi dengan reagen Liberman dalam beberapa konsentrasi H_2SO_4		
		5 M	6 M	7 M
Piroksikam				
Fenilbutazon				

4.2.2 Reagen Mandelin

Reagen mandelin terbuat dari amonium metevanadat yang dilarutkan dalam asam sulfat dengan berbagai macam variasi konsentrasi dari asam sulfat yaitu 5, 6 dan 7 M. Hasil reaksi perubahan warna antara sampel piroksikam dan fenilbutazon sama-sama berwarna kuning. Hal ini terjadi karena disebabkan oleh bilangan oksidasi dari vanadium yaitu (+5) seperti pada penjelasan gambar 2.9. Hasil reaksi perubahan warna antara reagen mendelin dengan sampel piroksikam dan fenilbutazon disederhanakan seperti tabel 4.6.

Tabel 4.6 Perubahan warna piroksikam dan fenilbutazon dengan reagen mandelin dalam beberapa konsentrasi

Sampel	Sebelum bereaksi	Perubahan warna setelah bereaksi dengan reagen Mandelin dalam beberapa konsentrasi H ₂ SO ₄		
		5 M	6 M	7 M
Piroksikam				
Fenilbutazon				

4.2.3 Reagen Feri Amonium Sulfat

Reagen feri amonium sulfat dengan variasi komposisi reagen 1x, 2x dan 3x dihasilkan warna reagen yang semakin terang. Reagen ini dibuat dengan melarutkan 8000 mg feri amonium sulfat kedalam 100 ml aquades kemudian 2x standar yaitu melarutkan 16000 mg dalam 100 ml aquades dan 3x standar yaitu melarutkan sebanyak 24000 mg dalam 100 ml aquades. Hasil reaksi antara reagen feri amonium sulfat 1x, 2x, dan 3x dengan sampel piroksikam menunjukkan perubahan warna. Hal yang sama pernah diamati oleh Lutfullah *et al* (2010), perubahan warna yang

dihasilkan antara ion Fe^{3+} dengan piroksikam karena terbentuknya kompleks antara Fe^{3+} dengan piroksikam seperti ditunjukkan gambar 2.8.

Hal yang sama juga terjadi pada sampel fenilbutazon yang direaksikan dengan reagen feri amonium sulfat. Hasil reaksi menunjukkan perubahan warna dari kuning transparan menjadi kuning. Hasil reaksi perubahan warna menjadi semakin jelas terjadi pada saat komposisi reagen semakin meningkat karena semakin banyaknya ion Fe^{3+} yang bereaksi dengan fenilbutazon. Hasil reaksi perubahan warna antara piroksikam dan fenilbutazon dengan reagen feri amonium sulfat terlihat seperti tabel 4.7.

Tabel 4.7 Perubahan warna piroksikam dan fenilbutazon dengan reagen feri amonium sulfat dalam beberapa konsentrasi

Sampel	Sebelum bereaksi	Perubahan warna setelah bereaksi dengan reagen feri amonium sulfat dalam beberapa konsentrasi		
		Standar 1x	2 x standar	3 x standar
Piroksikam				
Fenilbutazon				

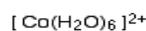
Reagen liberman tidak dapat memberikan respon perubahan warna yang baik, sedangkan hasil perubahan warna reagen mandelin dengan piroksikam dan fenilbutazon menghasilkan perubahan warna yang sama, sehingga reagen ini tidak dapat digunakan dalam tes strip. Hal ini karena dalam suatu tes strip dibutuhkan reagen yang mampu memberikan perubahan warna yang berbeda setiap obat. Oleh karena itu, reagen liberman dan mandelin tidak digunakan dalam imobilisasi ke

dalam membran. Sehingga perlu adanya tambahan reagen lain, dalam penelitian ini reagen yang ditambahkan yaitu kobalt tiosianat dan tembaga asetat.

4.2.4 Reagen Kobalt Tiosianat

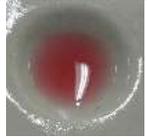
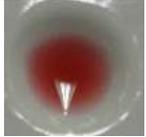
Reagen kobalt tiosianat terbuat dari kobalt tiosianat yang dilarutkan dalam aquademin dengan konsentrasi awal sebesar 2000 mg dalam 100 ml aquademin. Selanjutnya dilakukan peningkatan dengan memvariasikan massa dari kobalt tiosianat menjadi 2x dan 3x. Kajian dilakukan dengan mengamati reaksi antara reagen dengan pelarut reagen yaitu aquademin. Warna reagen kobalt tiosianat yaitu merah, hal ini terjadi karena terbentuknya kompleks antara ion Co^{2+} dengan H_2O seperti gambar 4.3. Variasi komposisi reagen kobalt tiosianat 1x, 2x, dan 3x dari standar mengakibatkan perubahan warna reagen menjadi semakin terang. Hasil reaksi menunjukkan bahwa reagen kobalt tiosianat tidak memberikan perubahan warna yang signifikan untuk identifikasi piroksikam meskipun komposisi reagen sudah dinaikkan 2x dan 3x. Perubahan warna tidak terjadi karena reagen kobalt tiosianat tidak mengalami reaksi dengan piroksikam.

Hal ini berbeda jika reagen kobalt tiosianat dengan variasi komposisi 1x, 2x, dan 3x direaksikan dengan fenilbutazon. Hasil reaksi menunjukkan perubahan warna yang semakin jelas dari warna merah menjadi warna ungu. Perubahan warna tersebut disebabkan oleh terbentuknya kompleks ion tetratiosianatokobaltat(II) seperti penjelasan pada sub bab variasi pelarut. Hasil reaksi perubahan warna piroksikam dan fenilbutazon dengan reagen kobalt tiosianat disederhanakan seperti tabel 4.8.



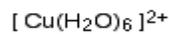
Gambar 4.3 Reagen kobalt tiosianat

Tabel 4.8 Perubahan warna piroksikam dan fenilbutazon dengan reagen kobalt tiosianat dalam beberapa konsentrasi

Sampel	Sebelum bereaksi	Perubahan warna setelah bereaksi dengan reagen kobalt tiosianat dalam beberapa konsentrasi		
		Standar 1x	2 x standar	3 x standar
Piroksikam				
Fenilbutazon				

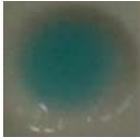
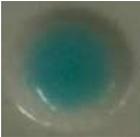
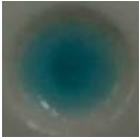
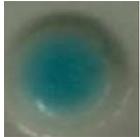
4.2.5 Reagen Tembaga Asetat

Reagen tembaga asetat terbuat dari 33 g tembaga asetat yang dilarutkan dalam 5 ml asam asetat dan diencerkan hingga 500 ml aquades. Kemudian divariasikan 2x dan 3x dari standar berturut-turut yaitu melarutkan 66 dan 99 gr tembaga asetat dalam 5 ml asam asetat dan diencerkan hingga 500 ml. Warna reagen tembaga asetat dengan variasi komposisi tembaga asetat 1x, 2x, dan 3x yaitu biru yang semakin pekat. Warna biru tersebut akibat kompleks yang terbentuk antara ion Cu^{2+} dengan H_2O membentuk $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ seperti gambar 4.4. Reaksi antara piroksikam dengan reagen tembaga asetat 1x menghasilkan warna hijau seperti gambar 2.9. Pada reagen tembaga asetat 2x dan 3 x perubahan warna semakin jelas. Perubahan warna yang dihasilkan disederhanakan pada tabel 4.9. Penjelasan hasil perubahan warna antara piroksikam dan fenilbutazon dengan reagen tembaga asetat sama halnya dengan penjelasan sub bab uji kelayakan pelarut.



Gambar 4.4 Reagen tembaga asetat

Tabel 4.9 Perubahan warna piroksikam dan fenilbutazon dengan reagen tembaga asetat dalam beberapa konsentrasi

Sampel	Sebelum bereaksi	Perubahan warna setelah bereaksi dengan reagen tembaga asetat dalam beberapa konsentrasi		
		Standar	2 x standar	3 x standar
Piroksikam				
Fenilbutazon				

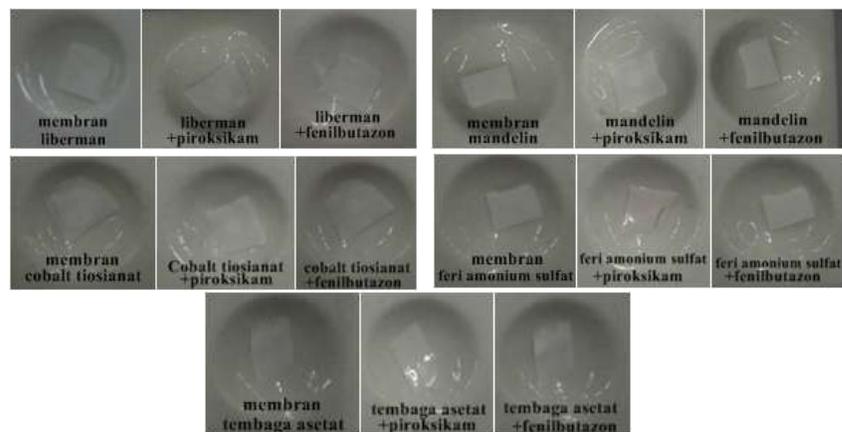
Hasil ini mengindikasikan bahwa pada eksperimen berikutnya untuk sampel piroksikam dan fenilbutazon menggunakan pelarut etanol dengan reagen kobalt tiosianat 3x, feri amonium sulfat 3x dan reagen tembaga asetat 3x.

4.3 Optimasi dan Imobilisasi Reagen dalam Membran Poliamida

Proses imobilisasi merupakan teknik memasukkan reagen pada suatu material pembawa sinyal. Dalam penelitian ini dilakukan dengan 2 metode imobilisasi yaitu *entrapment* dan adsorpsi. Metode *entrapment* dilakukan dengan menjerap reagen ke dalam membran, sedangkan metode adsorpsi yaitu menyerap reagen kedalam permukaan membran yang sudah jadi. Syarat membran (media) yang digunakan

dalam tes strip yaitu tidak boleh bereaksi dengan zat yang diimobilisasi, karena apabila bereaksi akan mengganggu proses analisis.

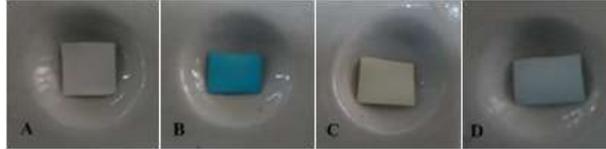
Proses *entrapment* reagen pada membran poliamida kurang begitu bagus karena tes strip yang dihasilkan tidak mengalami perubahan warna setelah proses *entrapment*. Hal ini terjadi karena ukuran partikel dari reagen yang terlalu kecil sehingga tidak bisa terentrap ke dalam membran dan terjadi proses *leaching* yaitu ditandai dengan lepasnya reagen dari membran pada saat pencelupan membran ke dalam bak koagulasi. Ukuran partikel ataupun zat yang akan diimobilisasi secara *entrapment* harus besar agar pada saat terentrap ke dalam membran tidak mudah mengalami *leaching*. Begitupun saat tes strip tersebut ditetesi sampel standar tidak juga menimbulkan perubahan warna. Hal ini terlihat jelas seperti gambar 4.5.



Gambar 4.5 Tes strip dengan proses imobilisasi *entrapment*

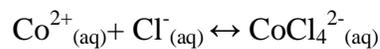
Proses adsorpsi reagen liberman dan mandelin tidak berhasil karena membran yang diadsorb larut ke dalam reagen sehingga membran menjadi hancur. Hal ini karena sifat dari poliamida sendiri yang rentan terhadap asam, dalam penelitian ini poliamida terhidrolisis dalam pelarut reagen, dalam hal ini pelarut yang digunakan yaitu H_2SO_4 5, 6, dan 7 M. Sedangkan proses adsorpsi reagen kobalt tiosianat, feri amonium sulfat, dan tembaga asetat pada membran poliamida menghasilkan tes strip yang berwarna. Hal ini menunjukkan bahwa reagen sudah berada di dalam membran. Adsorpsi reagen kobalt tiosianat pada membran membentuk tes strip berwarna biru,

adsorpsi reagen feri amonium sulfat pada membran membentuk tes strip warna kuning muda, sedangkan adsorpsi reagen tembaga asetat membentuk tes strip yang berwarna biru muda seperti pada gambar 4.6.



Gambar 4.6 Tes strip dengan proses immobilisasi adsorpsi A) Membran tanpa reagen, B) Tes strip reagen kobalt tiosianat, C) Tes strip reagen feri amonium sulfat, D) Tes strip reagen tembaga asetat

Tes strip kobalt tiosianat seharusnya berwarna merah seperti reagen awal sebelum diadsorpsi ke dalam membran. Namun, tes strip kobalt tiosianat yang terbentuk berwarna biru. Hal ini terjadi karena adanya HCl sebagai pelarut dari membran, sehingga ion Co^{2+} bereaksi dengan Cl^- membentuk CoCl_4^{2-} seperti gambar 4.7. Hal ini mempengaruhi hasil identifikasi piroksikam dan fenilbutazon, dimana apabila tes strip kobalt tiosianat bereaksi dengan piroksikam membentuk warna hijau, sedangkan apabila bereaksi dengan fenilbutazon membentuk warna biru muda seperti gambar 4.8.



Gambar 4.7 Reaksi ion Co^{2+} dengan ion Cl^-

Optimasi pada tes strip hanya dilakukan pada membran dengan immobilisasi adsorpsi, karena pada proses adsorpsi ini dihasilkan tes strip yang berwarna dan saat ditetesi sampel standar piroksikam dan fenilbutazon, tes strip tersebut juga mengalami perubahan warna seperti gambar 4.8.

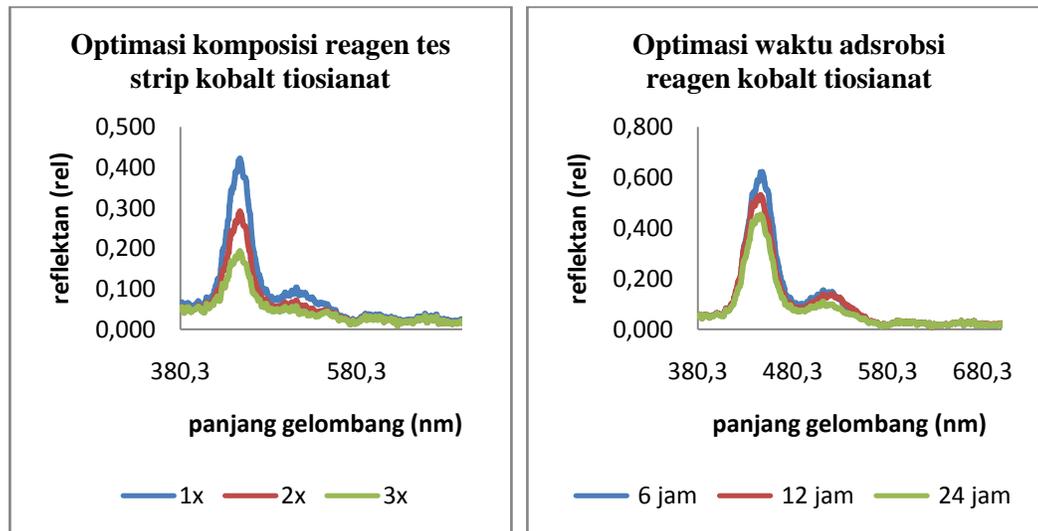
Optimasi pada tes strip dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif, secara kualitatif dengan cara melihat perubahan warna secara langsung pada tes strip, sedangkan secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan reflektan. Optimasi yang dilakukan yaitu variasi massa reagen 1x, 2x, dan 3x dan lama pengadsorban

reagen ke dalam membran 6, 12 dan 24 jam. Gambar 4.11 merupakan salah satu contoh hasil optimasi variasi massa reagen dan proses adsorb reagen ke dalam membran.



Gambar 4.8 Tes strip sebelum dan setelah ditetesi sampel

Hasil reflektan (lampiran B) dari semua tes strip menunjukkan nilai yang optimum pada variasi massa reagen 1x dan proses adsorpsi selama 6 jam. Hal ini karena semakin besar komposisi reagen dan semakin lama perendaman dalam reagen akan menghasilkan tes strip yang berwarna semakin gelap sehingga nilai reflektan akan semakin menurun begitu sebaliknya apabila semakin kecil komposisi reagen dan waktu perendaman tes strip sebentar maka akan dihasilkan tes strip dengan warna yang terang sehingga nilai reflektansinya semakin meningkat. Nilai intensitas untuk tes strip kobalt tiosianat memiliki nilai intensitas optimum variasi massa reagen yaitu 0,458 rel dan intensitas optimum untuk proses adsorpsi sebesar 0,754 rel. Nilai intensitas optimum variasi massa dan proses adsorpsi tes strip feri amonium sulfat berturut-turut yaitu 0,990 rel dan 0,980 rel. Sedangkan nilai optimum variasi massa dan proses adsorpsi untuk tes strip tembaga asetat yaitu 0,926 rel dan 0,948 rel. Hasil optimasi ini digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.



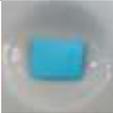
Gambar 4.9 Hasil optimasi tes strip kobalt tiosianat

Membran yang diimobilisasi secara adsorpsi dengan variasi komposisi reagen 1x, 2x dan 3x menghasilkan warna membran yang semakin gelap. Warna membran yang semakin gelap akan susah menunjukkan perubahan warna yang terjadi dibandingkan dengan membran yang berwarna terang. Misalnya perubahan membran warna putih menjadi biru akan lebih mudah teramati dibandingkan perubahan membran warna hitam menjadi biru. Hal ini juga didukung secara kuantitatif dengan nilai reflektan yang dihasilkan, membran yang berwarna terang mempunyai nilai reflektan yang lebih tinggi dibandingkan dengan membran yang berwarna gelap.

4.4 Uji Kualitatif Tes Strip

Tes strip yang optimum diuji secara kualitatif dengan sampel standar piroksikam dan fenilbutazon masing-masing 5mg/ml. Hasil uji kualitatif antara tes strip dengan sampel seperti tabel 4.10 dimana tanda positif (+) menunjukkan ada reaksi perubahan warna antara tes strip dengan sampel, sedangkan tanda negatif (-) menunjukkan tidak adanya reaksi perubahan warna antara tes strip dengan sampel.

Tabel 4.10 Hasil uji kualitatif tes strip dengan sampel

No	Tes Strip	Sebelum	+ Piroksikam 5mg/ml	+Fenilbutazon 5mg/ml
1	Kobalt tiosianat			
	Keterangan		+	+
2	Feri amonium sulfat			
	Keterangan		+	+
3	Tembaga asetat			
	Keterangan		+	-

Selain menggunakan kamera digital, uji kualitatif tes strip dengan sampel juga menggunakan mikroskop kamera D-2. Hasil dari mikroskop kamera menunjukkan perubahan warna dan ada waktu responnya sehingga bisa mengetahui waktu yang dibutuhkan untuk berubah warna.

4.4.1 Tes Strip Kobalt Tiosianat

Hasil reaksi tes strip kobalt tiosianat dengan piroksikam menunjukkan bahwa setelah 3 detik penetesan sampel, tes strip mengalami perubahan secara perlahan yang awalnya biru berubah menjadi biru muda kemudian setelah 27 detik berubah menjadi hijau. Perubahan warna semakin lama semakin kelihatan seperti gambar 4.10.



Gambar 4.10 Foto hasil mikroskop kamera tes strip kobalt tiosianat dengan sampel piroksikam

Hasil reaksi tes strip kobalt tiosianat dengan fenilbutazon menghasilkan perubahan warna setelah 23 detik setelah penetasan sampel yaitu dari biru menjadi biru muda. Perubahan warna terjadi secara perlahan seperti gambar 4.11.



Gambar 4.11 Foto hasil mikroskop kamera tes strip kobalt tiosianat dengan sampel fenilbutazon

4.4.2 Tes Strip Feri Amonium Sulfat

Perubahan warna tes strip ferri amonium sulfat dengan sampel piroksikam dan fenilbutazon menghasilkan perubahan yang berbeda. Hasil warna tes strip ferri amonium sulfat dengan piroksikam menghasilkan warna oranye (gambar 4.12), sedangkan hasil warna tes strip ferri amonium sulfat dengan fenilbutazon menghasilkan warna kuning seperti gambar 4.13.



Gambar 4.12 Foto hasil mikroskop kamera tes strip ferri amonium sulfat dengan sampel piroksikam

Perubahan warna antara tes strip ferri amonium sulfat dengan sampel piroksikam dan fenilbutazon terjadi secara perlahan setelah penetasan sampel. Untuk sampel piroksikam, setelah 23 detik penetasan sampel warna tes strip menjadi oranye, sedangkan untuk sampel fenilbutazon setelah 10 detik penetasan sampel warna tes strip menjadi kuning.



Gambar 4.13 Foto hasil mikroskop kamera tes strip feri amonium sulfat dengan sampel fenilbutazon

4.4.3 Tes Strip Tembaga Asetat

Hasil reaksi tes strip tembaga asetat dengan piroksikam menghasilkan perubahan warna secara gradual dari biru muda menjadi hijau setelah 1 menit penetasan sampel. Perubahan warna semakin lama semakin terlihat jelas seperti gambar 4.14.



Gambar 4.14 Foto hasil mikroskop kamera tes strip tembaga asetat dengan sampel piroksikam

Waktu respon setiap tes strip untuk masing-masing reagen berbeda-beda, hal ini dipengaruhi oleh konsentrasi dari reagen yaitu semakin tinggi konsentrasinya maka semakin cepat waktu responnya.

4.5 Kinerja Tes Strip

Tes strip yang sudah optimum diuji kinerjanya berupa limit deteksi, reproduibilitas, dan *life time*. Uji kinerja ini guna mengetahui dan mendukung hasil analisa tes strip secara kuantitatif.

4.5.1 Limit Deteksi

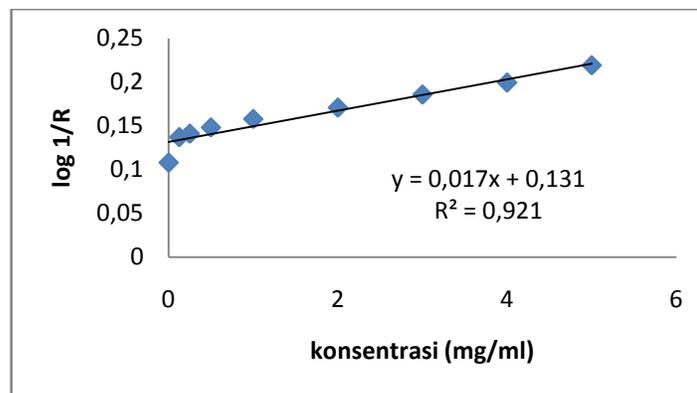
Limit deteksi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terkecil dari sampel yang masih bisa dideteksi oleh tes strip. Limit deteksi tes strip untuk setiap sampel mempunyai nilai yang berbeda-beda. Tes strip kobalt tiosianat diuji dengan sampel piroksikam dengan variasi konsentrasi mulai 5 mg/ml hingga 0,125 mg/ml. Uji limit

deteksi berdasarkan penurunan intensitas warna yang dihasilkan oleh tes strip. Hasil uji tes strip kobalt tiosianat dengan piroksikam dapat dilihat pada gambar 4.15 yang menunjukkan konsentrasi terkecil yang masih bisa diamati hanya sampai 2 mg/ml.



Gambar 4.15 Limit deteksi tes strip kobalt tiosianat+piroksikam A)tanpa sampel, B)5mg/ml, C)4mg/ml, D)3mg/ml, E)2mg/ml, F)1mg/ml, G)0,5mg/ml, H)0,25mg/ml, I)0,125mg/ml

Hasil limit deteksi tes strip kobalt tiosianat berdasarkan hasil reflektansi (lampiran 1) dengan sampel piroksikam berdasarkan pendekatan kuantitatif sebesar 1,893mg/ml dan dapat diamati dengan grafik pada gambar 4.16, dimana dari grafik tersebut diperoleh persamaan $y = 0,017x + 0,131$ dan nilai $R^2 = 0,921$.



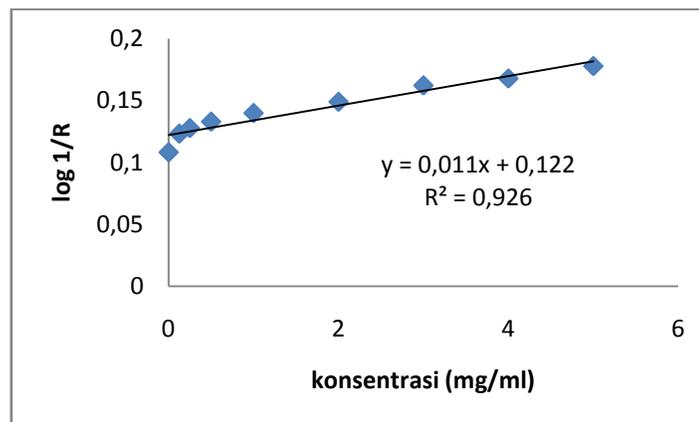
Gambar 4.16 Grafik hubungan konsentrasi dan reflektansi tes strip kobalt tiosianat dengan sampel piroksikam

Sedangkan hasil limit deteksi tes strip kobalt tiosianat dengan sampel fenilbutazon dapat diamati seperti gambar 4.17 dimana batas terkecil yang masih bisa diamati yaitu 0,5 mg/ml. Intensitas warna yang dihasilkan yaitu semakin kecil konsentrasi fenilbutazon maka semakin terang warna dari tes strip. Hal ini menunjukkan bahwa semakin sedikit fenilbutazon yang terdeteksi.



Gambar 4.17 Limit deteksi tes strip kobalt tiosianat+fenilbutazon A)tanpa sampel, B)5mg/ml, C)4mg/ml, D)3mg/ml, E)2mg/ml, F)1mg/ml, G)0,5mg/ml, H)0,25mg/ml, I)0,125mg/ml

Hasil pendekatan secara kuantitatif untuk tes strip kobalt tiosianat dengan sampel fenilbutazon dapat dilihat pada lampiran 1 dan gambar 4.18. Dari grafik tersebut diperoleh persamaan $y = 0,010x + 0,126$ dengan $R^2 = 0,985$. Limit deteksi tes strip kobalt tiosianat dengan sampel fenilbutazon dengan pendekatan kuantitatif sebesar 1,947 mg/ml.



Gambar 4.18 Grafik hubungan konsentrasi dan reflektansi tes strip kobalt tiosianat dengan sampel fenilbutazon

Tes strip feri amonium sulfat diuji juga limit deteksinya dengan sampel piroksikam dan fenilbutazon. Variasi konsentrasi sampel disamakan yaitu dari 5 mg/ml hingga 0,125 mg/ml. Limit deteksi tes strip feri amonium sulfat dengan piroksikam dapat diamati pada konsentrasi 0,5 mg/ml seperti pada gambar 4.19. begitu juga dengan sampel fenilbutazon, konsentrasi yang masih bisa diamati yaitu pada 0,5mg/ml seperti pada gambar 4.20.

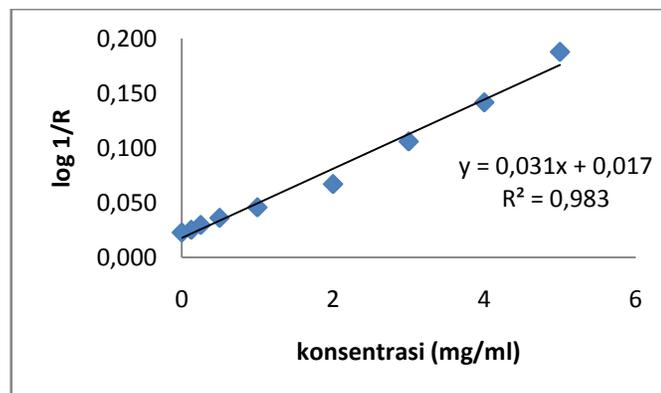


Gambar 4.19 Limit deteksi tes strip feri amonium sulfat+piroksikam A)tanpa sampel, B)5mg/ml, C)4mg/ml, D)3mg/ml, E)2mg/ml, F)1mg/ml, G)0,5mg/ml, H)0,25mg/ml, I)0,125mg/ml

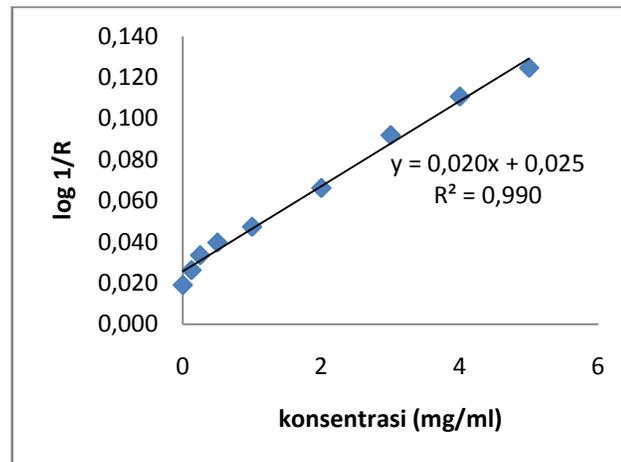


Gambar 4.20 Limit deteksi tes strip feri amonium sulfat+fenilbutazon A)tanpa sampel, B)5mg/ml, C)4mg/ml, D)3mg/ml, E)2mg/ml, F)1mg/ml, G)0,5mg/ml, H)0,25mg/ml, I)0,125mg/ml

Hasil pendekatan kuantitatif (seperti lampiran 1) limit deteksi tes strip feri amonium sulfat dengan sampel piroksikam yaitu sebesar 0,816 mg/ml, sedangkan untuk sampel fenilbutazon yaitu 0,713 mg/ml. Hasil pendekatan secara kuantitatif untuk tes strip feri amonium sulfat dengan sampel dapat juga diamati pada grafik gambar 4.21 dan 4.22 dibawah ini.



Gambar 4.21 Grafik hubungan konsentrasi dan reflektansi tes strip feri amonium sulfat dengan sampel piroksikam



Gambar 4.22 Grafik hubungan konsentrasi dan reflektansi tes strip feri amonium sulfat dengan sampel fenilbutazon

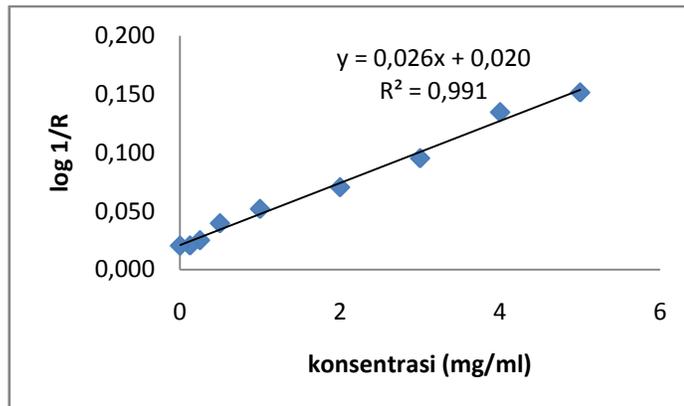
Tes strip tembaga asetat diuji limit deteksinya hanya terhadap sampel piroksikam, tetapi tidak pada sampel fenilbutazon karena dengan sampel fenilbutazon tidak menghasilkan perubahan warna. Hasil limit deteksi tes strip tembaga asetat dengan piroksikam dapat diamati pada gambar 4.23, dimana pada gambar tersebut dapat diamati konsentrasi terkecil yang masih bisa dideteksi oleh tes strip yaitu 1 mg/ml. Pada konsentrasi sampel piroksikam 0,5 mg/ml sudah tidak dapat dideteksi lagi yaitu dengan tidak adanya perubahan warna pada tes strip.



Gambar 4.23 Limit deteksi tes strip tembaga asetat+piroksikam A)tanpa sampel, B)5mg/ml, C)4mg/ml, D)3mg/ml, E)2mg/ml, F)1mg/ml, G)0,5mg/ml, H)0,25mg/ml, I)0,125mg/ml

Hasil pendekatan secara kuantitatif limit deteksi tes strip tembaga asetat dengan sampel piroksikam dapat dilihat pada lampiran 1 dan gambar 4.24 dimana variasi konsentrasi dari sampel yaitu 5 mg/ml, 4 mg/ml, 3 mg/ml, 2 mg/ml, 1 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,25 mg/ml dan 0,125 mg/ml. Dari grafik tersebut diperoleh persamaan y

= $0,026x + 0,020$ dan $R^2 = 0,991$. Nilai hasil perhitungan limit deteksi tes strip tembaga asetat dengan sampel piroksikam yaitu $0,629$ mg/ml.



Gambar 4.24 Grafik hubungan konsentrasi dan reflektansi tes strip tembaga asetat dengan sampel piroksikam

4.5.2 Reprodusibilitas Tes Strip

Reprodusibilitas tes strip digunakan untuk mengetahui kepresisian tes strip dalam waktu preparasi yang berbeda. Masing- masing tes strip yaitu tes strip kobalt tiosianat, tes strip feri amonium sulfat, dan tes strip tembaga asetat diuji reprodusibilitasnya dengan sampel piroksikam dan fenilbutazon pada panjang gelombang maksimum yaitu $447,9$ nm.

Tes strip kobalt tiosianat dengan komposisi optimum dibuat sebanyak 3 kali dalam kurun waktu yang berbeda . Masing-masing tes strip kobalt tiosianat ditetesi sampel piroksikam dan fenilbutazon kemudian diukur reprodusibilitasnya dengan spektrofotometer reflaktan. Hasil reprodusibilitas tes strip kobalt tiosianat dengan piroksikam yaitu $0,475\%$ dan hasil reprodusibilitas tes strip kobalt tiosianat dengan sampel fenilbutazon yaitu $0,025\%$. Hasil reprodusibilitas tes strip feri amonium sulfat dengan sampel piroksikam yaitu $0,137\%$ dan reprodusibilitas dengan sampel fenilbutazon yaitu $0,115\%$. Sedangkan uji reprodusibilitas tes strip tembaga asetat sama dengan tes strip kobalt tiosianat dan tes strip feri amonium sulfat yaitu preparasi

3 tes strip optimum dalam kurun waktu yang berbeda. Kemudian diukur reproduibilitasnya dengan spektrofotometri reflektan dan besarnya nilai reproduibilitas tes strip tembaga asetat dengan sampel piroksikam yaitu 0,175% dan reproduibilitas dengan sampel fenilbutazon yaitu 0,075%..

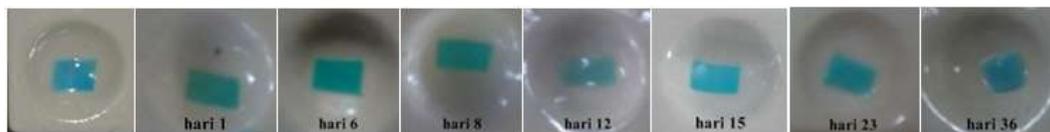
Hasil pengukuran reproduibilitas tes strip dengan sampel piroksikam dan fenilbutazon dapat disederhanakan seperti tabel 4.11.

Tabel 4.11 Nilai reproduibilitas tes strip dengan sampel

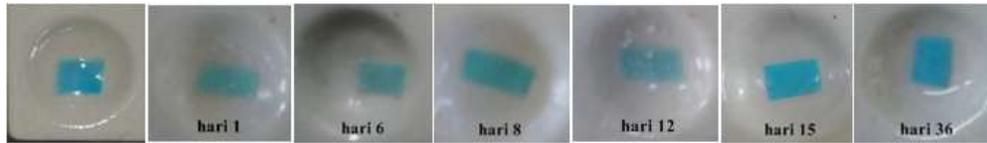
Tes Strip	Sampel	Rata-Rata		Reproduibilitas
		reflektan	SD	
Kobalt tiosianat	Piroksikam	0,631	3×10^{-3}	0,475%
	Fenilbutazon	0,728	$4,183 \times 10^{-3}$	0,025%
Feri amonium sulfat	Piroksikam	0,634	$8,660 \times 10^{-4}$	0,137%
	Fenilbutazon	0,754	$8,660 \times 10^{-4}$	0,115%
Tembaga asetat	Piroksikam	0,701	$1,225 \times 10^{-3}$	0,175%
	Fenilbutazon	0,942	$7,071 \times 10^{-4}$	0,075%

4.5.3 Life Time Tes strip

Life time tes strip digunakan untuk mengetahui daya tahan reagen dalam membran bertahan hingga berapa lama. Uji *life time* dilakukan dengan cara meneteskan tes strip setiap hari hingga tes strip tersebut tidak mengalami perubahan warna artinya warna sama seperti warna tes strip awal. *Life time* tes strip kobalt tiosianat selama 15 hari dapat dilihat pada gambar 4.25 dan gambar 4.26. Setelah 15 hari, yaitu hari ke 23 dan hari ke 36 tes strip sudah tidak menunjukkan perubahan warna seperti hari-hari sebelumnya.



Gambar 4.25 *Life time* tes strip kobalt tiosianat dengan sampel piroksikam



Gambar 4.26 *Life time* tes strip kobalt tiosianat dengan sampel fenilbutazon

Life time tes strip feri amonium sulfat dapat dilihat seperti gambar 4.27 dan 4.28. *Life time* tes strip feri amonium sulfat berbeda dengan *life time* tes strip kobalt tiosianat. *Life time* tes strip feri amonium sulfat sangat lama hingga 80 hari, hal ini dimungkinkan reagen teradsorb baik dalam membran. Perubahan warna yang dihasilkan setelah ditetesi sampel tetap jelas meskipun sudah berhari-hari hingga saat ini.

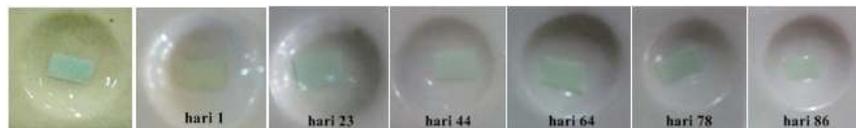


Gambar 4.27 *Life time* tes strip feri amonium sulfat dengan sampel piroksikam



Gambar 4.28 *Life time* tes strip feri amonium sulfat dengan sampel fenilbutazon

Life time tes strip tembaga asetat sama halnya dengan tes strip feri amonium sulfat yang mampu bertahan lama seperti ditunjukkan pada gambar 4.29. *Life time* hari 1 tes strip yang semula berwarna biru, kemudian setelah ditetesi sampel berubah menjadi hijau. Begitupun dengan hari ke 8, 23, 29, 36, 64 hingga lebih 80 hari ini tes strip masih berubah warna.



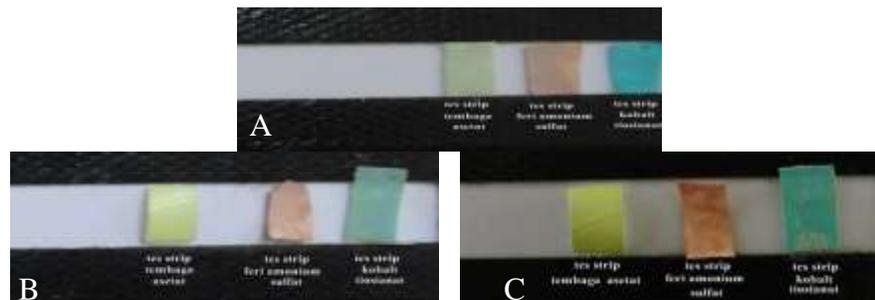
Gambar 4.29 *Life time* tes strip tembaga asetat dengan sampel piroksikam

4.6 Uji Tes Strip dengan Larutan Standar Konsentrasi yang Tinggi

Uji tes strip dengan larutan standar konsentrasi lebih tinggi digunakan untuk mengetahui perubahan warna yang dihasilkan, setelah sebelumnya tes strip diuji dengan variasi konsentrasi yang lebih kecil yaitu 5 hingga 0,125 mg/ml diperoleh hasil perubahan warna yang semakin tidak jelas hingga warna tes strip tidak mengalami perubahan (Gambar 4.30 dan Gambar 4.32). Hasil uji tes strip dengan konsentrasi yang lebih tinggi yaitu 5, 10, dan 20 mg/ml diperoleh perubahan warna tes strip yang semakin jelas (Gambar 4.31).



Gambar 4.30 Tes strip sebelum ditetesi sampel

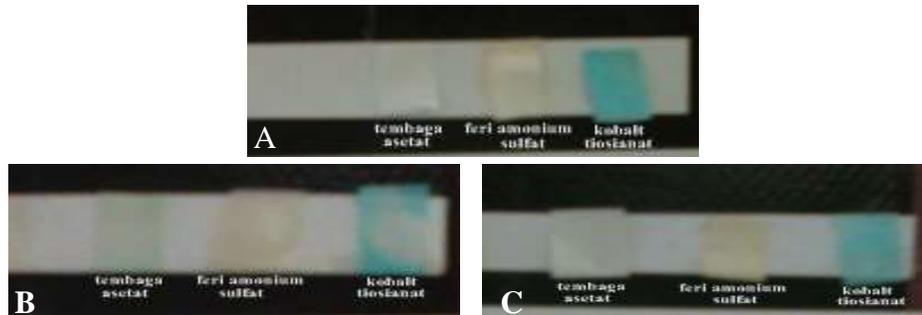


Gambar 4.31 A) piroksikam 5mg/ml, B) piroksikam 10mg/ml, C) piroksikam 20 mg/ml

Gambar 4.33 merupakan gambar tes strip yang ditetesi dengan sampel fenilbutazon dengan berbagai variasi. Selain uji dengan konsentrasi tinggi, dilakukan juga uji real terhadap sampel jamu. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan pada sampel jamu diketahui bahwa perubahan warna pada tes strip setelah ditetesi sampel sama dengan perubahan tes strip setelah ditetesi sampel piroksikam seperti pada lampiran D. Meskipun hasil perubahan warna yang didapatkan mirip dengan standar piroksikam, namun hasil uji ini masih belum valid karena masih belum dilakukan uji interferensi.



Gambar 4.32 Tes strip sebelum ditetesi sampel



Gambar 4.33 A)fenilbutazon 5mg/ml, B) fenilbutazon 10mg/ml, C) fenilbutazon 20 mg/ml

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil penelitian yaitu:

1. Reagen liberman dan mandelin tidak dapat mengidentifikasi piroksikam dan fenilbutazon dalam bentuk larutan, tetapi harus dalam bentuk serbuk, sedangkan reagen feri amonium sulfat, tembaga asetat dan kobalt tiosianat dapat mengidentifikasi piroksikam dan fenilbutazon dalam bentuk larutan dengan memberikan perubahan warna yang berbeda-beda
2. Membran poliamida dapat diimobilisasi secara adsorpsi dengan reagen feri amonium sulfat, tembaga asetat, dan kobalt tiosianat
3. Kinerja tes strip berupa limit deteksi, reproduibilitas, dan *life time*. Tes strip kobalt tiosianat dengan sampel piroksikam memiliki limit deteksi 1,893 mg/ml, reproduibilitas 0,475% dan *life time* 15 hari, sedangkan dengan fenilbutazon memiliki limit deteksi 1,947 mg/ml, reproduibilitas 0,025% dan *life time* 15 hari. Tes strip feri amonium sulfat dengan sampel piroksikam dan fenilbutazon berturut-turut memiliki limit deteksi 0,816 mg/ml dan 0,713 mg/ml, reproduibilitas 0,137% dan 0,115% dan *life time* lebih dari 80 hari. Tes strip tembaga asetat dengan piroksikam memiliki limit deteksi 0,629 mg/ml, reproduibilitas 0,175% dan *life time* lebih dari 80 hari.

5.2 Saran

1. Perlu adanya kajian lebih lanjut tentang proses imobilisasi *entrapment* reagen ke dalam membran poliamida agar reagen bisa terjebak dalam membran dan bisa menghasilkan tes strip.

2. Perlu adanya uji interferensi dari beberapa analit yang bereaksi dengan reagen pada NIJ standar.
3. Perlu adanya komparasi uji piroksikam dan fenilbutazon dengan teknik standar HPLC.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2005. *Material Safety Data Sheet Piroxicam MSDS*. <http://www.scienceLab.com> [27 Februari 2012]
- Anonim. 2012. *Test Strip, Merckoquant*. http://www.merckmillipore.co.id/test-strip-merckoquant-/c_Y_Ob.s1OpO0AAAE1A41tk03 [27 Februari 2012]
- Anonim. 2012. http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_ris1s126.html
- Ardyanti, Ageng F. 2012. *Pengembangan Alat Identifikasi Analisa Kualitatif untuk Morfin*. Jember: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
- Azmi, S. N. H, Iqbal, B., Jaboob, M. A. M., Shahari, W., dan Rahman, N. 2009. Spectrophotometric Determination of Piroxicam via Chelation with Fe(III) in Commercial Dosage Forms. *J. Chin Chem Soc*, 56, 1083-1091
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2005. *Peraturan Kepala BPOM RI Nomor HK.00.05.41.1384 Tentang Kriteria dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandart dan Fitofarmaka*. Jakarta: BPOM RI.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2005. *Keputusan Kepala BPOM RI Nomor HK.00.05.4.2411 Tentang Ketentuan Pokok Pengelompokan dan Panandaan Obat Bahan Alam Indonesia*. Jakarta: BPOM RI.
- Billmeyer, F. Jr. 1984. *Text Book of Polimer Science, Third Edition*. Renseloer Polytechnic Institute, John Willey and Sons. New York, USA.

- Caulcut, R., dan Boddy, R. 1983. *Statistic for analytical Chemistry*. London: Chapman and Hall.
- Chaplin, M. 2004. Methods Of Immobilisation. <http://www.lsbu.ac.uk/bilogy/enztech/immethod.html>.
- Clark, Jim. 2003. Analysis of Drugs and Poisons. <http://mtnviewfarm.net/>. [24 September 2012]
- DepKes RI. 1994. *Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor: 661/MENKES/SK/VII/1994 Tentang Persyaratan Obat Tradisional*.
- DepKes RI. 2007. *Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor: 381/MENKES/SK/III/2007 Tentang Kebijakan Obat Tradisional*.
- Ditjen POM Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia edisi 4 DepKes RI Jakarta 683*.
- Ebel. 1992. *Obat Sintetik*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Eggins, B.R. 1996. *Biosensor: an introduction*. John Wiley and Sons, Ltd
- European Pharmacopoeia 5.0. 2005. *Phenylbutazone Hal 2229-2231*.
- Florey, K. 1986. *Analytical Profiles of Drugs Substance*, volume 15, 511-530. New York: Academic Press Inc
- Harian Kompas. 2008. *77 21 Obat Tradisional Ini Berbahaya*. [online]. <http://www.health.kompas.com/read/2011/.../21.Obat.Tradisional.Ini.Berbahaya> [27 Februari 2012].

- Hermanto dan Subroto. 2007. *Pilih Jamu dan Herbal tanpa Efek Samping*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Isbagio, H. dan Setiyohadi, B. 1995. *Masalah dan Penanganan Osteoarthritis Sendi Lutut*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Jedziniak, P., Juskiewicz, T., dan Gierak, A. 2005. Determination Of Phenylbutazone And Oxyphenbutazone In Bovine Plasma Using High Performance Liquid Chromatography With Uv Detection. *Bull Vet Inst Pulawy* 49, 223-226.
- Katzung, B.G. dan Trevor, A.Z. 1998. *Buku Bantu Farmakologi Alih Bahasa Staf Dosen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya*. Jakarta: EGC.
- Khopkar, S. M. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Kovar, K., dan Laudzun, M. 1989. *Chemistry and Reaction Mechanism of Rapid test for Drugs of Abuse and Precursors Chemicals*. Jerman: Scientific and Technical Notes.
- Kumar, Vijay R., A, Madhukar, Y, Sanjeeva, Navalgund, Sameer G., dan Mahesh, Uma. 2010. Analytical method development and validation of Piroxicam by RP-HPLC. *Scholars Reseach Library*, 2 (2):217-222.
- Lutfullah, Sharma, S. Rahman, N., Azmi, S. N. H., Al Hidafi, H. J. S., AlQasmi, M. EM. A. 2010. *Spectrophotometric determination of Fe (III) via complexation with piroxicam n synthetic mixture and soil samples*. Journal of Scientific and Industrial Research Vol. 69.
- Mark, James. 1999. *Polymer Data Handbook*. University of Cincinnati: Oxford University Press.

- Miller, J. C., dan Miller, J. N. 1993. *Statistics for Analytical Chemistry*. Fifth Edition. England: Ellis Horward, PTR, Prentice Hall.
- Moffat, A. C, Osselton, M. D, dan Widdop, B. 2004. *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*. [online]. <http://mtnviewfarm.net/drugs-poisons-i006.html> [11 Januari 2012]
- Morris, D. 2002. *Technical Buletin: The Use of Dry Reagent Technology Test Strips for Chemical Analysis in Dialysis Water Treatment Aplication*. <http://www.Sterichek.com/articles.asp>.
- Mulder, M. 1996. *Basic Principles of Membrane Technology*. Kluwer Academic Publicer.
- O'Neal, Carol L., Crouch, Dennis J., dan Fatah, Alim A. 1999. Validation of twelve chemical spot tests for the detection of drugs of abuse. *Forensic Science International 109 (2000) 189-201*.
- Pedrotti, Frank L., dan Leno. S. P.,1993. *Introduction to Optic*, Second Edition, Prentice-Hall, Inc, Tokyo.
- Pramono E (dalam Hedi R. Dewoto). 2007. Pengembangan Obat Tradisional Indonesia menjadi Fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia Volum 57 nomor 7*. Jakarta: Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran UI.
- Roth, Heman J., dan Blaschke, G. 1998. *Analisis Farmasi*. Yogyakarta. Gadjah Mada University Press.
- Sabale, P.M., Patel, J., dan Patel Y. 2012. *Metal Complexes: Current Trends and Future Potential*. India: Departement of Pharmaceutical Chemistry.
- Schunack, Walter, Mayer, K., dan Hake, M., 1990. *Senyawa Obat Edisi ke 2*. Yogyakarta. Gadjah Mada University Press.

- Shannon L., Springsteen, and Trudy M. R. 1998. *The Use of Center Mount Sample Holders in Reflectance Spectroscopy*. <http://www.google.co.id/url?sa=t&rct=j&q=The+Use+of+Center+Mount+Sample+Holders+in+Reflectance+Spectroscopy/>
- Siswandono dan Soekardjo B. 1995. *Kimia Medicinal*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Stevens, M. P. 1989. *Kimia Polimer*. Alih Bahasa Iis Sopyan. Jakarta: Pradnya Paramita.
- Vienna. 1994. *Rapid Testing Methods of Drugs Of Abuse*. New York: United Nations.
- Wenten, I. G. 1999. *Teknologi Membran Industrial*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Wulan, Praswati PDK., Rejoso, M.T., Hermansyah, H. *Reksi Hidrolisis Minyak Zaitun Menggunakan Lipase Rhizopus oryzae yang di Imobilisasi Melalui Metode Adsorpsi*. Depok: Departemen Teknik Kimia.
- Wilmana P. F., Gunawan S. G. 2007. *Analgesik-Antipiretik Analgesik Anti-Inflamasi Nonsteroid dan Obat Gangguan Sendi Lainnya. Dalam: Farmakologi dan Terapi. Edisi V*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI, pp: 237-9.
- Yuliarti, Nurheti. 2008. *Tips Cerdas Mengkonsumsi Jamu*. Yogyakarta: Penerbit Banyu Medi

LAMPIRAN A. LIMIT DETEKSI

A.1 Sampel piroksikam

a. Reagen kobalt tiosianat

No	konsentrasi piroksikam standar	reflektansi						Rata-rata	Log 1/R (y)
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4	Ulangan 5	Ulangan 6		
1	0	0,734	0,767	0,819	0,762	0,742	0,853	0,779	0,108
2	0,125	0,723	0,728	0,718	0,732	0,742	0,732	0,729	0,137
3	0,25	0,704	0,733	0,733	0,726	0,710	0,729	0,723	0,141
4	0,5	0,714	0,717	0,713	0,708	0,709	0,704	0,711	0,148
5	1	0,692	0,693	0,699	0,694	0,695	0,698	0,695	0,158
6	2	0,679	0,671	0,673	0,677	0,678	0,670	0,675	0,171
7	3	0,656	0,657	0,649	0,651	0,656	0,643	0,652	0,186
8	4	0,643	0,639	0,640	0,621	0,619	0,628	0,632	0,199
9	5	0,604	0,607	0,609	0,600	0,600	0,602	0,604	0,219

No	Konsentrasi piroksikam standar	Log 1/R (y)	\hat{y}	$(y - \hat{y})$	$(y - \hat{y})^2$
1	0	0,108	0,131	-0,023	0,000521
2	0,125	0,137	0,133	0,004	1,64x10 ⁻⁵
3	0,25	0,141	0,135	0,006	3,5x10 ⁻⁵
4	0,5	0,148	0,139	0,009	7,63 x10 ⁻⁵
5	1	0,158	0,148	0,009	9,82 x10 ⁻⁵
6	2	0,171	0,165	0,006	3,49 x10 ⁻⁵
7	3	0,186	0,182	0,004	1,41 x10 ⁻⁵
8	4	0,199	0,199	0,0005	2,62 x10 ⁻⁷
9	5	0,219	0,216	0,003	1,03 x10 ⁻⁵
jumlah					0,000806

$$S_B = \sqrt{\frac{\sum (y - \hat{y})^2}{n-2}}$$

$$= \sqrt{\frac{0,000806}{7}} = 0,01073$$

$$Y_{LOD} = \gamma_B + 3S_B$$

$$= 0,131 + 3(0,01073)$$

$$= 0,163$$

$$X_m = \frac{\gamma LOD - c}{m} = \frac{0,1631 - 0,131}{0,017} = 1,894 \text{ mg/ml}$$

b. Reagen feri amonium sulfat

No	konsentrasi piroksikam standar	reflektansi						Rata- rata	Log 1/R (γ)
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4	Ulangan 5	Ulangan 6		
1	5	0,645	0,657	0,641	0,648	0,648	0,657	0,649	0,188
2	4	0,697	0,706	0,717	0,732	0,725	0,755	0,722	0,141
3	3	0,731	0,798	0,799	0,807	0,800	0,768	0,784	0,106
4	2	0,855	0,860	0,848	0,861	0,864	0,855	0,857	0,067
5	1	0,894	0,907	0,895	0,896	0,901	0,909	0,900	0,046
6	0,5	0,927	0,912	0,922	0,917	0,916	0,929	0,920	0,036
7	0,25	0,937	0,934	0,934	0,934	0,933	0,934	0,934	0,029
8	0,125	0,936	0,951	0,946	0,948	0,934	0,947	0,944	0,025
9	0	0,953	0,956	0,943	0,943	0,944	0,956	0,949	0,023

No	Konsentrasi piroksikam standar	Log 1/R (γ)	$\hat{\gamma}$	($\gamma - \hat{\gamma}$)	($\gamma - \hat{\gamma}$) ²
1	5	0,188	0,172	0,016	$2,428 \times 10^{-4}$
2	4	0,141	0,141	0,000	$2,071 \times 10^{-7}$
3	3	0,106	0,110	-0,004	$1,781 \times 10^{-5}$
4	2	0,067	0,079	-0,012	$1,468 \times 10^{-4}$
5	1	0,046	0,048	-0,002	$5,729 \times 10^{-6}$
6	0,5	0,036	0,033	0,003	$1,221 \times 10^{-5}$
7	0,25	0,029	0,025	0,005	$2,252 \times 10^{-5}$
8	0,125	0,025	0,021	0,004	$1,770 \times 10^{-5}$
9	0	0,023	0,017	0,006	$3,198 \times 10^{-5}$
Σ					$4,977 \times 10^{-4}$

$$S_B = \sqrt{\frac{\sum(\gamma - \hat{\gamma})^2}{n-2}}$$

$$= \sqrt{\frac{4,977 \times 10^{-4}}{7}} = 8,432 \times 10^{-3}$$

$$Y_{LOD} = \gamma_B + 3S_B$$

$$= 0,017 + 3(8,432 \times 10^{-3})$$

$$= 4,229 \times 10^{-2}$$

$$X_m = \frac{\gamma_{LOD} - c}{m} = \frac{4,229 \times 10^{-2} - 0,017}{0,031} = 0,816 \text{ mg/ml}$$

c. Reagen tembaga asetat

No	konsentrasi piroksikam standar	reflektansi						Rata-rata	Log 1/R (γ)
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4	Ulangan 5	Ulangan 6		
1	5	0,706	0,692	0,712	0,702	0,711	0,713	0,706	0,151
2	4	0,739	0,732	0,715	0,722	0,726	0,769	0,734	0,134
3	3	0,814	0,774	0,791	0,816	0,811	0,814	0,803	0,095
4	2	0,849	0,861	0,862	0,835	0,848	0,846	0,850	0,070
5	1	0,864	0,891	0,897	0,888	0,884	0,900	0,887	0,052
6	0,5	0,914	0,904	0,923	0,901	0,918	0,917	0,913	0,040
7	0,25	0,942	0,941	0,937	0,949	0,947	0,946	0,944	0,025
8	0,125	0,952	0,951	0,947	0,958	0,955	0,959	0,954	0,021
9	0	0,967	0,964	0,953	0,943	0,950	0,947	0,954	0,020

No	konsentrasi piroksikam standar	Log 1/R (γ)	$\hat{\gamma}$	$(\gamma - \hat{\gamma})$	$(\gamma - \hat{\gamma})^2$
1	5	0,151	0,150	0,0013	$1,686 \times 10^{-6}$
2	4	0,134	0,124	0,0104	$1,086 \times 10^{-4}$
3	3	0,095	0,098	-0,0029	$8,174 \times 10^{-6}$
4	2	0,070	0,072	-0,0016	$2,669 \times 10^{-6}$
5	1	0,052	0,046	0,0059	$3,425 \times 10^{-5}$
6	0,5	0,040	0,033	0,0066	$4,330 \times 10^{-5}$

7	0,25	0,025	0,027	-0,0014	$1,920 \times 10^{-6}$
8	0,125	0,021	0,023	-0,0026	$6,896 \times 10^{-6}$
9	0	0,020	0,020	0,0005	$2,253 \times 10^{-7}$
			Σ		$2,077 \times 10^{-4}$

$$S_B = \sqrt{\frac{\sum(\gamma - \hat{\gamma})^2}{n-2}}$$

$$= \sqrt{\frac{2,077 \times 10^{-4}}{7}} = 5,448 \times 10^{-3}$$

$$Y_{LOD} = \gamma_B + 3S_B$$

$$= 0,020 + 3(5,448 \times 10^{-3})$$

$$= 3,634 \times 10^{-2}$$

$$X_m = \frac{\gamma_{LOD} - c}{m} = \frac{3,634 \times 10^{-2} - 0,020}{0,026} = 0,629 \text{ mg/ml}$$

A.2 Sampel Fenilbutazon

a. Reagen kobalt tiosianat

No	konsentrasi fenilbutazon standar	reflektansi						Rata-rata	Log 1/R (γ)
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4	Ulangan 5	Ulangan 6		
1	0	0,734	0,767	0,819	0,762	0,742	0,853	0,779	0,108
2	0,125	0,749	0,745	0,749	0,763	0,750	0,762	0,753	0,123
3	0,25	0,744	0,740	0,758	0,742	0,743	0,744	0,745	0,128
4	0,5	0,737	0,737	0,736	0,738	0,732	0,738	0,736	0,133
5	1	0,724	0,727	0,726	0,726	0,725	0,720	0,725	0,139
6	2	0,715	0,702	0,718	0,703	0,710	0,710	0,709	0,149
7	3	0,687	0,684	0,687	0,689	0,694	0,689	0,688	0,162
8	4	0,680	0,680	0,685	0,675	0,677	0,680	0,679	0,168
9	5	0,665	0,666	0,662	0,661	0,668	0,662	0,664	0,178

No	konsentrasi fenilbutazon standar	Log 1/R (γ)	\hat{y}	($\gamma - \hat{y}$)	($\gamma - \hat{y}$) ²
1	0	0,108	0,122	-0,0138	0,000191
2	0,125	0,123	0,123	-0,0001	2,89x10 ⁻⁸
3	0,25	0,128	0,125	0,0029	8,98x10 ⁻⁶
4	0,5	0,133	0,128	0,0054	2,94x10 ⁻⁵
5	1	0,139	0,133	0,0069	4,71x10 ⁻⁵
6	2	0,149	0,144	0,0049	2,45x10 ⁻⁵
7	3	0,162	0,155	0,0072	5,19x10 ⁻⁵
8	4	0,168	0,166	0,0018	3,28x10 ⁻⁶
9	5	0,178	0,177	0,0008	6,92x10 ⁻⁷
				jumlah	0,000357

$$S_B = \sqrt{\frac{\sum(\gamma - \hat{y})^2}{n-2}}$$

$$= \sqrt{\frac{0,000357}{7}} = 0,00713$$

$$Y_{LOD} = \gamma_B + 3S_B$$

$$= 0,122 + 3(0,00713)$$

$$= 0,1434$$

$$X_m = \frac{\gamma_{LOD} - c}{m} = \frac{0,1434 - 0,122}{0,011} = 1,946 \text{ mg/ml}$$

b. Reagen feri amonium sulfat

No	Konsentrasi standar fenilbutazon	nilai reflaktan						rata- rata	Log 1/R (γ)
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4	Ulangan 5	Ulangan 6		
1	5	0,749	0,752	0,746	0,761	0,749	0,746	0,751	0,125
2	4	0,779	0,776	0,771	0,770	0,778	0,777	0,775	0,111
3	3	0,801	0,816	0,803	0,816	0,803	0,817	0,809	0,092
4	2	0,854	0,851	0,867	0,851	0,868	0,860	0,859	0,066
5	1	0,896	0,896	0,899	0,895	0,894	0,900	0,897	0,047

6	0,5	0,910	0,908	0,912	0,914	0,918	0,913	0,913	0,040
7	0,25	0,919	0,929	0,923	0,925	0,936	0,922	0,926	0,034
8	0,125	0,938	0,943	0,955	0,934	0,947	0,928	0,941	0,026
9	0	0,960	0,957	0,951	0,961	0,959	0,953	0,957	0,019

No	Konsentrasi	Log 1/R (γ)	\hat{y}	$(\gamma - \hat{y})$	$(\gamma - \hat{y})^2$
1	5	0,125	0,125	-0,0004	$1,549 \times 10^{-7}$
2	4	0,111	0,105	0,0056	$3,185 \times 10^{-5}$
3	3	0,092	0,085	0,0069	$4,753 \times 10^{-5}$
4	2	0,066	0,065	0,0012	$1,531 \times 10^{-6}$
5	1	0,047	0,045	0,0024	$5,892 \times 10^{-6}$
6	0,5	0,040	0,035	0,0048	$2,264 \times 10^{-5}$
7	0,25	0,034	0,030	0,0036	$1,304 \times 10^{-5}$
8	0,125	0,026	0,028	-0,0011	$1,228 \times 10^{-6}$
9	0	0,019	0,025	-0,0058	$3,417 \times 10^{-5}$
Σ					$1,580 \times 10^{-4}$

$$S_B = \sqrt{\frac{\Sigma(\gamma - \hat{y})^2}{n-2}}$$

$$= \sqrt{\frac{1,580 \times 10^{-4}}{7}} = 4,751 \times 10^{-3}$$

$$Y_{LOD} = \gamma_B + 3S_B$$

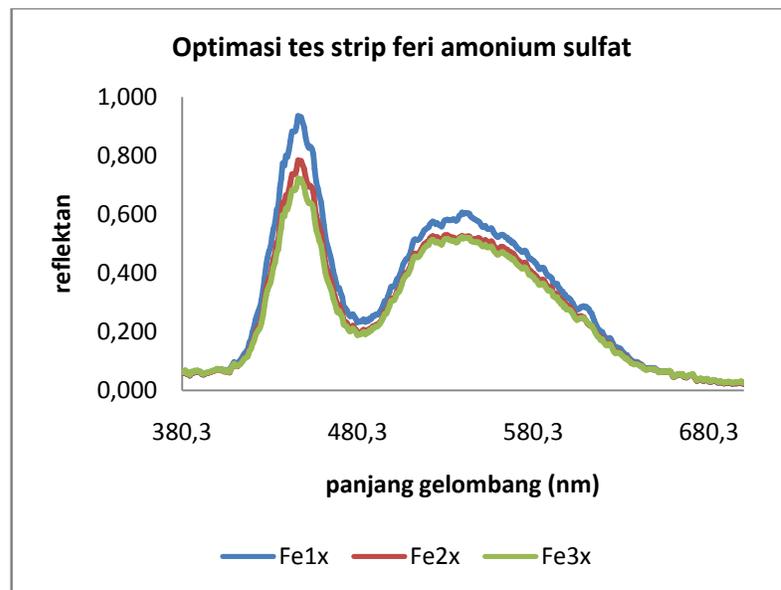
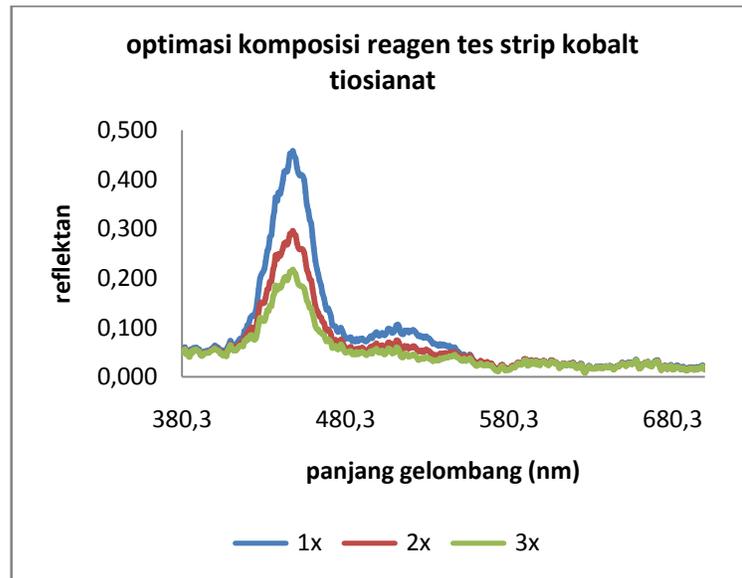
$$= 0,025 + 3(4,751 \times 10^{-3})$$

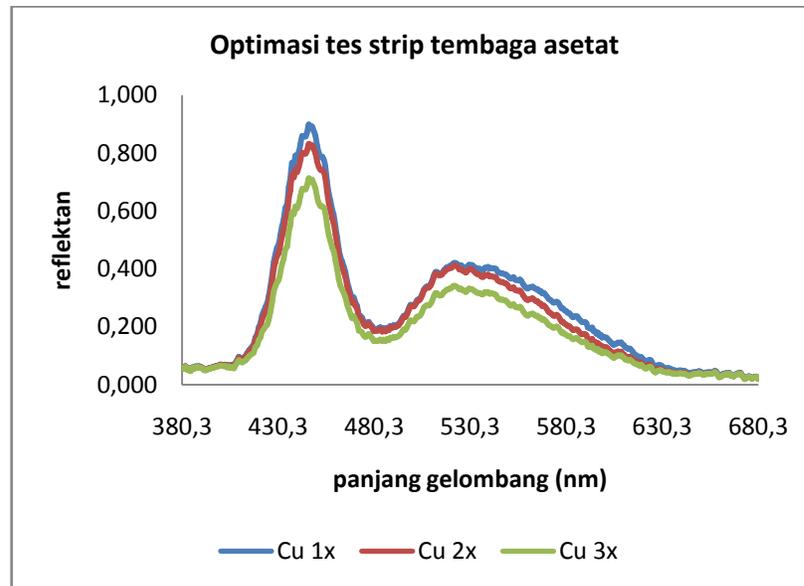
$$= 3,925 \times 10^{-2}$$

$$X_m = \frac{\gamma_{LOD} - c}{m} = \frac{3,925 \times 10^{-2} - 0,025}{0,020} = 0,713 \text{ mg/ml}$$

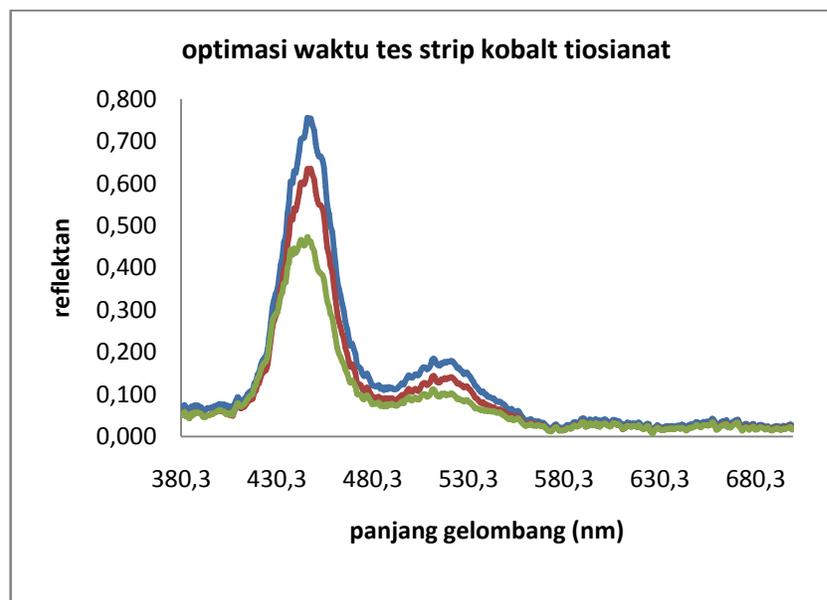
LAMPIRAN B. OPTIMASI MEMBRAN

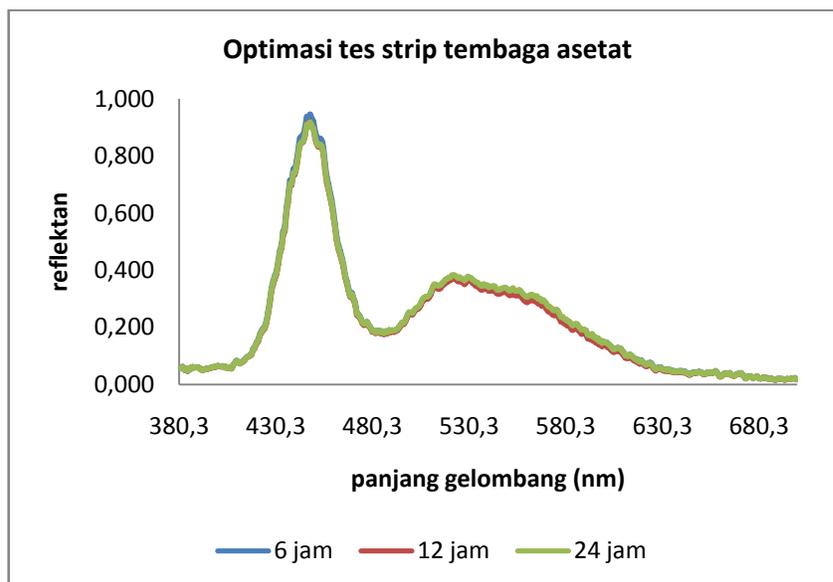
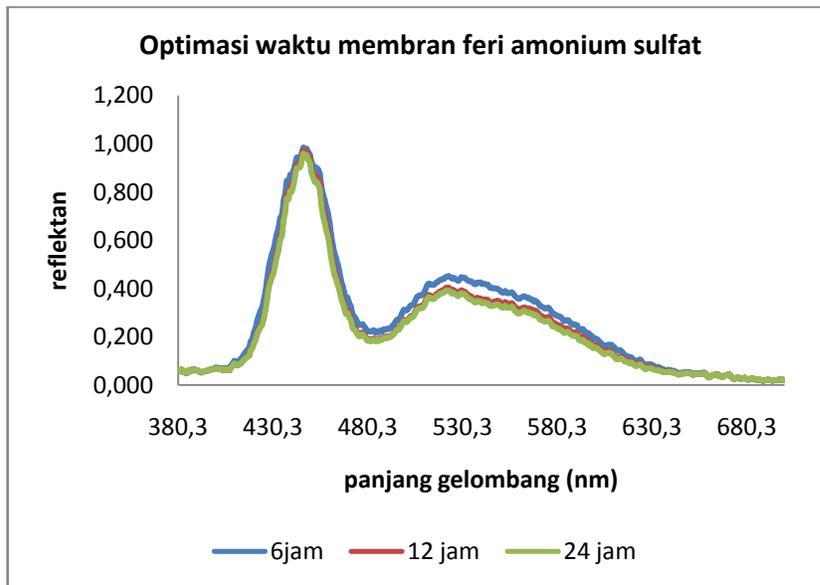
B.1 Optimasi variasi komposisi membran





B.2 Optimasi Waktu





LAMPIRAN C. DATA REPRODUSIBILITAS

C.1 Sampel Piroksikam

a. Tes strip kobalt tiosianat

Tes Strip	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	x	(x- \bar{x})	(x- \bar{x}) ²
I	0,633	0,630	0,632	0,631	0	0
II	0,624	0,626	0,634	0,628	-0,003	9x10 ⁻⁶
III	0,627	0,637	0,638	0,634	-0,003	9x10 ⁻⁶
				$\bar{x} = 0,631$		$\sum = 1,8x10^{-5}$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{1,8x10^{-5}}{2}} = 3x10^{-3}$$

$$Kv = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

$$= \frac{3x10^{-3}}{0,631} \times 100\%$$

$$= 0,475\%$$

b. Tes strip feri amonium sulfat

Tes strip	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	x	(x- \bar{x})	(x- \bar{x}) ²
I	0,641	0,636	0,634	0,634	0,001	1x10 ⁻⁶
II	0,632	0,636	0,634	0,634	0,001	1x10 ⁻⁶
III	0,635	0,629	0,633	0,633	-0,001	1x10 ⁻⁶
				$\bar{x} = 0,634$		$\sum = 3x10^{-6}$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{3 \times 10^{-6}}{2}} = 8,660 \times 10^{-4}$$

$$Kv = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

$$= \frac{8,660 \times 10^{-4}}{0,634} \times 100\%$$

$$= 0,137\%$$

c. Tes strip tembaga asetat

Tes strip	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	x	(x- \bar{x})	(x- \bar{x}) ²
I	0,702	0,699	0,704	0,702	0,001	1x10 ⁻⁶
II	0,703	0,703	0,701	0,702	0,001	1x10 ⁻⁶
III	0,682	0,726	0,690	0,699	-0,002	4x10 ⁻⁶
				$\bar{x} = 0,701$		$\sum = 6 \times 10^{-6}$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{6 \times 10^{-6}}{2}} = 1,225 \times 10^{-3}$$

$$Kv = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,225 \times 10^{-3}}{0,701} \times 100\%$$

$$= 0,175\%$$

C.2 Sampel Fenilbutazon

a. Tes strip kobalt tiosianat

Tes strip	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	x	(x- \bar{x})	(x- \bar{x}) ²
I	0,735	0,735	0,730	0,733	0,005	2,5x10 ⁻⁵

II	0,726	0,723	0,726	0,725	-0,003	9×10^{-6}
III	0,727	0,728	0,726	0,727	-0,001	1×10^{-6}
				$\bar{x} = 0,728$		$\sum = 3,5 \times 10^{-5}$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{3,5 \times 10^{-5}}{2}} = 4,183 \times 10^{-3}$$

$$K_V = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

$$= \frac{4,183 \times 10^{-3}}{0,728} \times 100\%$$

$$= 0,025\%$$

b. Tes strip feri amonium sulfat

Tes strip	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	x	(x-\bar{x})	(x-\bar{x})²
I	0,753	0,753	0,753	0,753	-0,001	1×10^{-6}
II	0,762	0,752	0,752	0,752	0,001	1×10^{-6}
III	0,764	0,743	0,758	0,755	0,001	1×10^{-6}
				$\bar{x} = 0,754$		$\sum = 3 \times 10^{-6}$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{3 \times 10^{-6}}{2}} = 8,660 \times 10^{-4}$$

$$K_V = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

$$= \frac{8,660 \times 10^{-4}}{0,754} \times 100\%$$

$$= 0,115\%$$

c. Tes Strip tembaga asetat

Tes strip	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	x	(x- \bar{x})	(x- \bar{x}) ²
I	0,943	0,943	0,940	0,942	0	0
II	0,943	0,940	0,943	0,942	0	0
III	0,942	0,943	0,944	0,943	0,001	1x10 ⁻⁶
				$\bar{x} = 0,942$		$\sum = 1x10^{-6}$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{x})^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{1x10^{-6}}{2}} = 7,071x10^{-4}$$

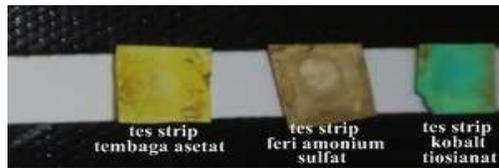
$$Kv = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

$$= \frac{7,071x10^{-4}}{0,942} \times 100\%$$

$$= 0,075\%$$

LAMPIRAN D. HASIL UJI REAL JAMU

D.1 Jamu Rematik



D.2 Jamu Encok

