



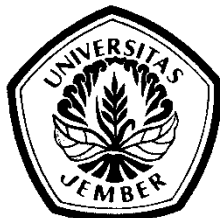
**IDENTIFIKASI KUALITATIF BAHAN ANALGESIK PADA JAMU  
MENGUNAKAN *PROTOTYPE TEST STRIP***

**SKRIPSI**

Oleh

**VICI SAKA DIRGANTARA  
NIM 071810301025**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2013**



**IDENTIFIKASI KUALITATIF BAHAN ANALGESIK DALAM JAMU  
MENGUNAKAN *PROTOTYPE TEST STRIP***

**SKRIPSI**

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

Oleh:

**VICI SAKA DIRGANTARA  
NIM 071810301025**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
2013**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Jannati, S.Pd, M.Pd dan Ayahanda Mariyadi, S.Pd, M.Pd yang tercinta, terima kasih sebanyak-banyaknya atas semua doa, kasih sayang, dan motivasi tiada henti serta pengorbanan selama ini. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmad-Nya baik di dunia maupun di akhirat. Amin;
2. Kakekku tercinta Alm. H. Mudhakhir dan semua keluarga yang telah memberikan semangat dan motivasi;
3. guru-guru di SDN Gedang 1 , SMPN 2 Porong, SMAN 1 Sidoarjo dan para dosen di Jurusan Kimia FMIPA UNEJ;
4. Almameter tercinta Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Jember.

## MOTTO

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kamu dan yang berilmu pengetahuan beberapa derajat.

**(Q. S. Al-Mujaadilah: 11)\***

“Barang siapa menginginkan soal-soal yang berhubungan dengan dunia, wajiblah ia memiliki ilmunya; dan barang siapa yang ingin (selamat dan berbahagia) di akhirat, wajiblah ia mengetahui ilmunya pula; dan barang siapa yang menginginkan kedua-duanya, wajiblah ia memiliki ilmu kedua-duanya pula”.

**(HR. Bukhari dan Muslim)\*\***

Banyak kegagalan dalam hidup ini dikarenakan orang-orang tidak menyadari betapa dekatnya mereka dengan keberhasilan saat mereka menyerah.

**(Thomas Alva Edison)\*\*\***

- 
- \*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2002. Alquran dan Terjemahannya. Bandung: CV Penerbit JUMANATUL ‘ALI-ART (J-ART)
- \*\*) [www.anneahira.com](http://www.anneahira.com). 2013. *menuntut-ilmu-dalam-pandangan-islam*.
- \*\*\*) Mahya, Ainun Haura. 2012. *101 Mutiara Kata Paling Inspiratif dan Motivatif*. Klaten: Cable Book



## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Vici Saka Dirgantara

NIM : 071810301025

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: *Identifikasi Kualitatif Bahan Analgesik pada Jamu Menggunakan Prototype Test 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, 17 Mei 2013

Yang menyatakan,

Vici Saka Dirgantara

NIM 071810301025

**SKRIPSI**

**IDENTIFIKASI KUALITATIF BAHAN ANALGESIK PADA JAMU  
MENGUNAKAN *PROTOTYPE TEST STRIP***



Oleh  
Vici Saka Dirgantara  
NIM 071810301025

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Novita Andarini, S.Si, M.Si

## PENGESAHAN

**Skripsi** berjudul *Identifikasi Kualitatif Bahan Analgesik pada Jamu Menggunakan Prototype Test Strip* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

hari : **RABU**

tanggal : **05 JUN 2013**

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

### Tim Penguji

Dosen Pembimbing Utama,



Drs. Zulfikar, Ph.D.  
NIP 196310121987021001

Dosen Pembimbing Anggota,



Novita Andarini, S.Si, M.Si.  
NIP 197211122000032001

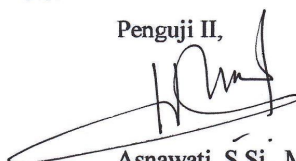
### Anggota Tim Penguji

Penguji I,



Dr. Bambang Piluharto, S.Si, M.Si  
NIP 197107031997021001

Penguji II,



Asnawati, S.Si, M.Si.  
NIP 196808141999032001



Mengesahkan  
Dekan,

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

## RINGKASAN

**Identifikasi Kualitatif Bahan Analgesik pada Jamu Menggunakan *Prototype Test Strip***; Vici Saka Dirgantara, 071810301025; 2013: 78 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Banyak obat tradisional seperti jamu yang menggunakan bahan kimia obat untuk meningkatkan kualitas jamu dari segi khasiat. Hal tersebut merupakan suatu pelanggaran prosedur dalam pembuatan jamu, sehingga diperlukan metode identifikasi yang mudah, murah, cepat, sederhana, serta ramah lingkungan. Salah satu teknik identifikasi yang sederhana yang dapat digunakan adalah tes strip. Tes strip merupakan pendeteksi yang dibentuk oleh tiga komponen utama, meliputi reagen, membran dan pengukur atau pengidentifikasi. Reagen spesifik diimmobilisasi di dalam membran sehingga analit dapat berinteraksi secara langsung di dalam membran. Reagen spesifik yang digunakan untuk identifikasi asam mefenamat, aspirin dan parasetamol adalah reagen Mandelin, asam nitrat, ferri klorida, dan metil merah. Teknik immobilisasi dilakukan secara *entrapment* ke dalam membran selulosa bakterial- $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Proses identifikasi akan lebih sederhana jika keempat tes strip diletakkan pada satu series strip sehingga keberadaan parasetamol, aspirin, dan asam mefenamat dapat dibedakan secara spesifik.

Penelitian ini bertujuan untuk (i) mengetahui kelayakan pelarut untuk identifikasi parasetamol, aspirin dan asam mefenamat di dalam jamu (ii) mengetahui kinerja *prototype tes strip* yang meliputi limit deteksi, daya beda, waktu respon, dan interferensi analit secara kualitatif dalam mengidentifikasi bahan analgesik parasetamol, aspirin, dan asam mefenamat dalam jamu; (iii) mengetahui perbedaan kemampuan *prototype tes strip* untuk membedakan parasetamol, aspirin, dan asam mefenamat dalam jamu antara analisis secara langsung (filtrasi) dan tidak langsung (melalui proses ekstraksi).

Penelitian diawali dengan melakukan immobilisasi reagen ke dalam membran *bacterial cellulose-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*. Selanjutnya, uji pendahuluan yang meliputi uji kelayakan pelarut dan interferensi analit dengan perbandingan komposisi 25:75, 50:50, 75:25 % (v/v). Tes strip yang dihasilkan digunakan untuk uji kualitatif analit dalam sampel jamu, serta diuji kinerjanya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut yang layak digunakan untuk melarutkan parasetamol dan aspirin yakni aquades (air) dan kloroform untuk asam mefenamat. Limit deteksi *prototype tes strip* dikatakan cukup baik pada kisaran antara 0,125 – 5 mg/mL untuk parasetamol; 0,125 – 1 mg/mL untuk aspirin; dan 0,125 – 0,25 mg/mL untuk asam mefenamat. *Prototype tes strip* mampu membedakan keberadaan parasetamol, aspirin, dan asam mefenamat secara spesifik dengan mengamati perubahan pada tiap *series strip*. Keberadaan parasetamol memberikan perubahan warna pada strip pertama (*moderat olive*), kedua (*orange*), dan ketiga (*grayish yellow*). Keberadaan aspirin memberikan perubahan warna pada strip ketiga (*deep purple*) dan keempat (*pink*). Keberadaan asam mefenamat memberikan perubahan warna pada strip pertama (*grayish olive*) dan kedua (*yellow*). Interferensi analit dengan perbandingan 25:75, 50:50, 75:25 % (v/v) tidak mengganggu hasil identifikasi secara kualitatif. Waktu respon *prototype tes strip* untuk parasetamol dan aspirin tergolong cepat yakni berkisar antara 56 – 266 detik untuk parasetamol dan 26 – 36 detik untuk aspirin, sedangkan untuk asam mefenamat tergolong sedang berkisar antara 90 – 435 detik. Uji real sampel dilakukan melalui proses filtrasi dan ekstraksi. *Prototype tes strip* tidak mampu mengidentifikasi keberadaan analit dalam sampel jamu yang dipreparasi secara filtrasi, sehingga preparasi analit dalam sampel jamu dilakukan secara ekstraksi dengan tujuan mengeliminasi senyawa pengganggu dan dengan tujuan prekonsentrasi analit. Sampel jamu dengan label J1 mengandung parasetamol sedangkan J2 mengandung asam mefenamat.



## PRAKATA

Puji syukur alhamdulillah ke hadirat Allah Yang Maha Segalanya atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “*Identifikasi Kualitatif Bahan Analgesik pada Jamu Menggunakan Prototype Test Strip*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata 1 (S1) di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Drs. Kusno, DEA, Ph.D., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
2. Bapak Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D., selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember dan Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
3. Bapak Drs. Zulfikar, Ph.D, selaku Dosen Pembimbing Utama, Ibu Novita Andarini, S.Si, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota, Bapak Dr. Bambang Piluharto, S.Si, M.Si., selaku Dosen penguji I, dan Ibu Asnawati, S.Si. M.Si., selaku Dosen Penguji II;
4. Kepala Laboratorium Kimia Analitik dan Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
5. seluruh teknisi laboratorium dan staf administrasi di Jurusan kimia yang telah banyak membantu;
6. seluruh teman seperjuangan kimia tanpa terkecuali yang telah banyak memberikan motivasi sehingga skripsi dan studi penulis terselesaikan dengan baik;
7. rekan kerja di laboratorium Lisa, Titis, Kharisma, Yuris yang telah memberikan motivasi;

8. teman Kost 55 (Ika, Fahma, Wida, Mami, Yusti, Ruly) terima kasih atas kebersamaan dan dukungannya selama ini;
9. Semua pihak yang telah berperan dalam penyelesaian karya tulis ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Besar harapan penulis, semoga skripsi ini dapat bermanfaat. Aamiin.

Jember, 17 Mei 2013

Penulis

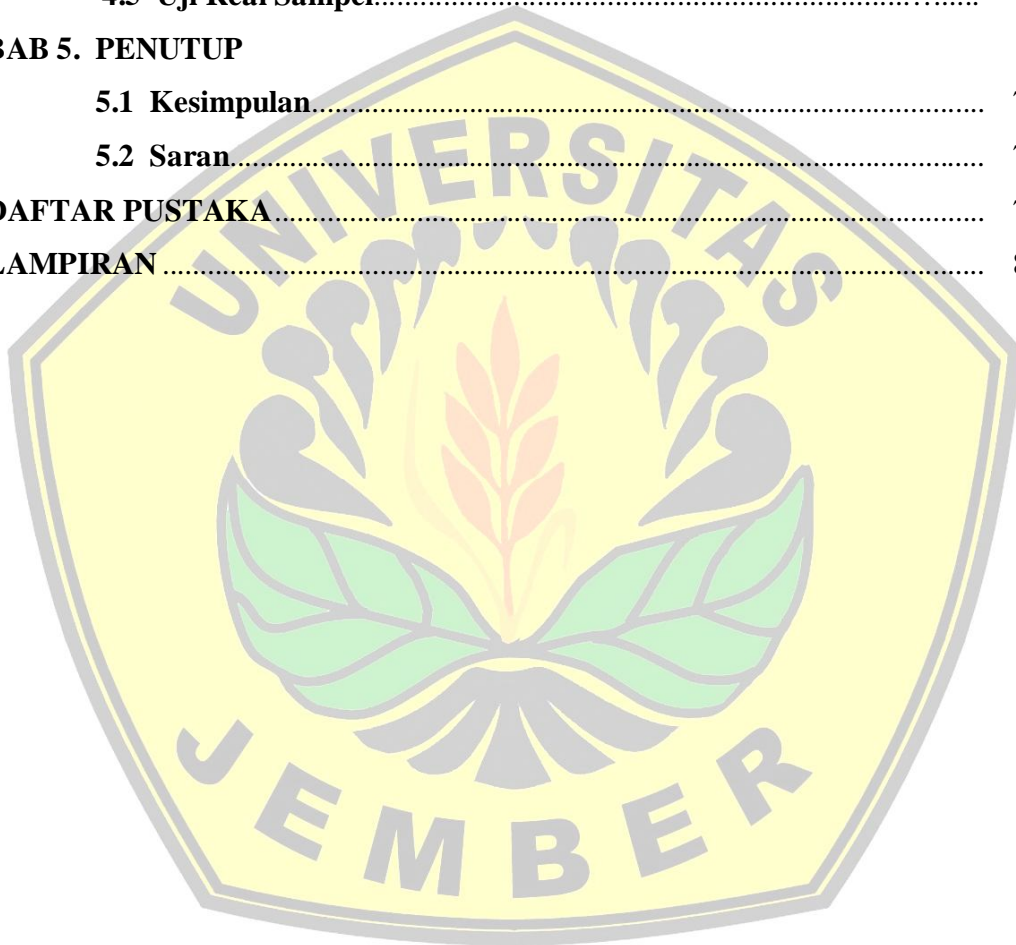


## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xix
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	4
<b>1.3 Batasan Masalah</b> .....	4
<b>1.4 Tujuan</b> .....	5
<b>1.5 Manfaat</b> .....	5
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
<b>2.1 Jamu</b> .....	6
<b>2.2 Senyawa Analgesik</b> .....	7
2.2.1 Klasifikasi Senyawa Analgesik.....	7
2.2.2 Mekanisme Kerja Senyawa Analgesik .....	9
2.2.3 Efek Toksik dan Bahaya Analgesik.....	10
<b>2.3 Metode Standar Analisa Bahan Analgesik</b> .....	11
<b>2.4 Metode Uji Bercak (<i>Color Spot Test</i>)</b> .....	12

<b>2.5 Metode Analisa Tes strip</b> .....	18
2.5.1 Definisi Tes Strip .....	18
2.5.2 Penggunaan Tes Strip dalam Obat .....	20
<b>2.6 Immobilisasi reagen ke dalam polimer</b> .....	21
2.6.1 Adsorpsi .....	21
2.6.2 Entrapment .....	22
2.6.3 Mikroenkapsulasi .....	23
2.6.4 Cross-Linking .....	23
2.6.5 Ikatan Kovalen .....	24
<b>BAB 3. METODOLOGI</b>	
<b>3.1 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	25
<b>3.2 Alat</b> .....	25
<b>3.3 Bahan</b> .....	25
<b>3.4 Diagram Alir Penelitian</b> .....	26
<b>3.5 Prosedur Penelitian</b> .....	27
3.5.1 Pembuatan Reagen .....	27
3.5.2 Pembuatan Tes Strip .....	28
3.5.3 Uji Pendahuluan .....	29
3.5.4 Preparasi Analit dalam sampel Jamu .....	31
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
<b>4.1 Kelayakan Pelarut Sampel</b> .....	33
4.1.1 Parasetamol .....	34
4.1.2 Aspirin .....	37
4.1.3 Asam Mefenamat .....	40
<b>4.2 Pengembangan Prototype Test Strip</b> .....	44
<b>4.3 Kinerja Tes Strip</b> .....	47
4.3.1 Kinerja <i>Prototype Test Strip</i> terhadap Parasetamol .....	47
4.3.2 Kinerja <i>Prototype Test Strip</i> terhadap Aspirin .....	52
4.3.3 Kinerja <i>Prototype Test Strip</i> terhadap Asam Mefenamat .....	55

<b>4.4 Interferensi Analit .....</b>	<b>59</b>
4.4.1 Tes Strip Metil Merah.....	63
4.4.2 Tes Strip <i>Ferric chloride hexahydrate</i> .....	65
4.4.3 Tes Strip Asam Nitrat.....	67
4.4.4 Tes Strip Mandelin.....	69
<b>4.5 Uji Real Sampel.....</b>	<b>73</b>
<b>BAB 5. PENUTUP</b>	
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>77</b>
<b>5.2 Saran.....</b>	<b>78</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>79</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>83</b>





## DAFTAR TABEL

Halaman

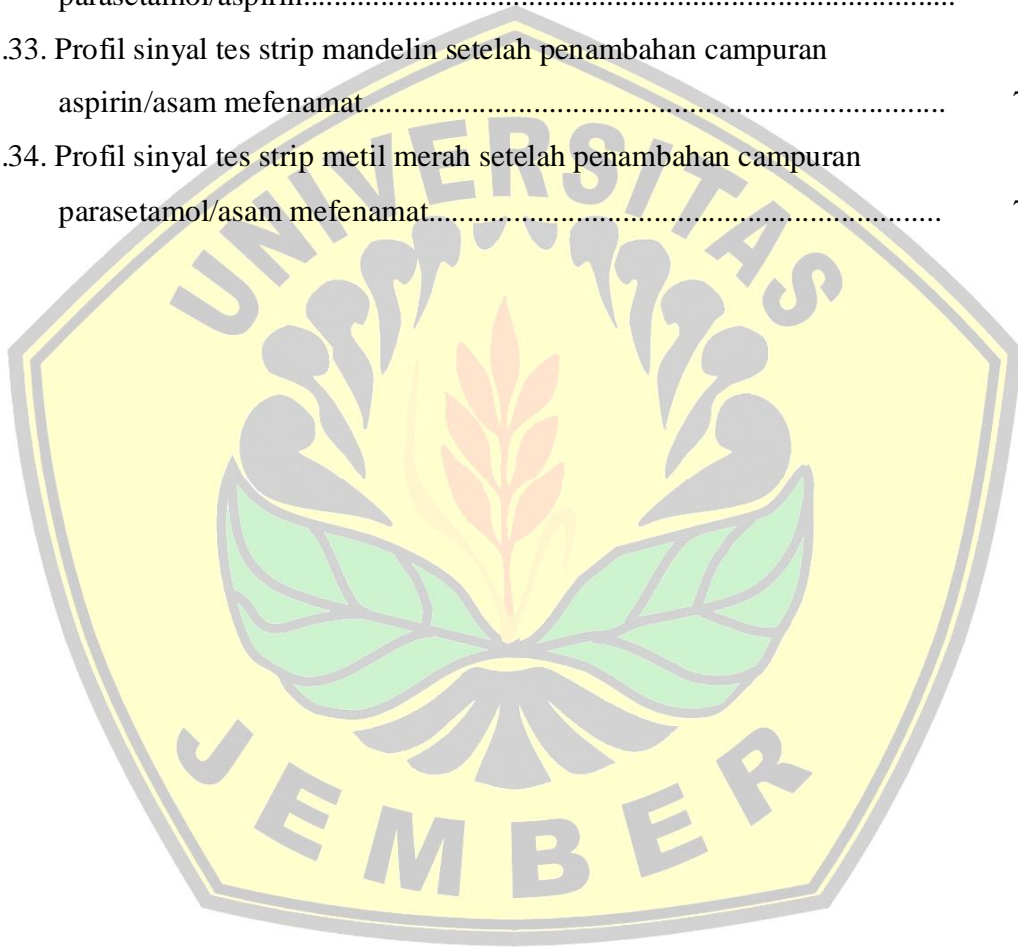
2.1. Klasifikasi Kimia <i>Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs</i> (NSAID).....	8
2.2. Klasifikasi NSAID berdasarkan selektivitasnya terhadap Isoenzim COX.....	8
3.1. Perbandingan komposisi Nata de coco-Alumina pada tiap test strip .....	28
3.2. Klasifikasi waktu respon secara kualitatif.....	30
3.3. Perbandingan komposisi dua jenis larutan.....	30
3.4. Jenis sampel jamu yang diidentifikasi.....	32
4.1. Hasil reaksi tes strip dengan parasetamol dengan pelarut air .....	34
4.2. Hasil reaksi tes strip dengan parasetamol dengan pelarut kloroform.....	36
4.3. Hasil reaksi tes strip dengan aspirin dengan pelarut air.....	39
4.4. Hasil reaksi tes strip dengan aspirin dengan pelarut kloroform.....	39
4.5. Hasil reaksi tes strip dengan asam mefenamat dengan pelarut air.....	41
4.6. Hasil reaksi tes strip dengan asam mefenamat dengan pelarut kloroform.....	43
4.7. Hasil reaksi prototype dengan parasetamol, aspirin, dan asam mefenamat....	46
4.8. Hasil reaksi <i>prototype</i> tes strip dengan parasetamol.....	50
4.9. Hasil reaksi <i>prototype</i> tes strip dengan aspirin.....	54
4.10. Hasil reaksi <i>prototype</i> tes strip dengan asam mefenamat.....	58
4.11. Hasil reaksi <i>prototype</i> tes strip dengan campuran dua senyawa.....	59
4.12. Hasil reaksi real sampel menggunakan filtrat jamu.....	74
4.13. Hasil reaksi real sampel menggunakan ekstrak jamu.....	75

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1. Penandaan Obat Bahan Alam.....	6
2.2. Perubahan warna dari bilangan oksidasi +5,+4,+3,+2 vanadat.....	12
2.3. Reaksi hipotetik asam mefenamat dengan reagen mandelin.....	14
2.4. Reaksi hipotetik parasetamol dengan reagen mandelin.....	14
2.5. Reaksi dengan asam nitrat pekat.....	15
2.6. Reaksi antara asam mefenamat dengan reagen asam nitrat.....	15
2.7. Reaksi antara parasetamol dengan reagen asam nitrat.....	16
2.8. Reaksi ferri klorida dengan parasetamol.....	16
2.9. Reaksi ferri klorida dengan asam salisilat.....	17
2.10. Reaksi metil merah dengan penambahan ion hidronium.....	17
2.11. Tes strip urin.....	19
2.12. Teknik immobilisasi adsorpsi.....	21
2.13. Teknik immobilisasi <i>entrapment</i> .....	22
2.14. Teknik immobilisasi enkapsulasi.....	23
2.15. Teknik immobilisasi <i>cross-linking</i> .....	24
2.16. Teknik immobilisasi ikatan kovalen.....	24
3.1. Diagram Alir Penelitian.....	26
3.2. Rancangan Prototipe test strip.....	29
4.1. Warna indikator metil merah.....	35
4.2. Metil merah terprotonasi.....	38
4.3. Reaksi <i>ferric chloride hexahydrate</i> dengan asam mefenamat dalam air.....	40
4.4. Reaksi <i>ferric chloride hexahydrate</i> dengan asam mefenamat dalam kloroform.....	42
4.5. Reaksi hipotetik asam mefenamat dengan asam nitrat.....	44
4.6. Model <i>Prototype</i> .....	45

4.7. Kinerja tes strip mandelin terhadap parasetamol.....	48
4.8. Waktu respon tes strip mandelin dengan parasetamol.....	48
4.9. Kinerja tes strip asam nitrat terhadap parasetamol.....	48
4.10. Waktu respon tes strip asam nitrat dengan parasetamol.....	49
4.11. Kinerja tes strip <i>ferric chloride hexahydrate</i> terhadap parasetamol.....	49
4.12. Waktu respon tes strip <i>ferric chloride hexahydrate</i> dengan parasetamol....	49
4.13. Kinerja tes strip <i>ferric chloride hexahydrate</i> terhadap aspirin.....	52
4.14. Waktu respon tes strip <i>ferric chloride hexahydrate</i> dengan aspirin.....	53
4.15. Kinerja tes strip metil merah terhadap aspirin.....	53
4.16. Waktu respon tes strip metil merah dengan aspirin.....	53
4.17. Kinerja tes strip mandelin terhadap asam mefenamat.....	56
4.18. Waktu respon tes strip mandelin dengan asam mefenamat.....	56
4.19. Kinerja tes strip asam nitrat terhadap asam mefenamat.....	57
4.20. Waktu respon tes strip asam nitrat dengan asam mefenamat.....	57
4.21. Hasil reaksi antara <i>prototype</i> dengan parasetamol-aspirin.....	61
4.22. Hasil reaksi antara <i>prototype</i> dengan aspirin-asam mefenamat.....	62
4.23. Hasil reaksi antara <i>prototype</i> dengan parasetamol-asam mefenamat.....	63
4.24. Profil sinyal tes strip metil merah setelah penambahan campuran aspirin/asam mefenamat.....	64
4.25. Profil sinyal tes strip metil merah setelah penambahan campuran aspirin/parasetamol.....	64
4.26. Profil sinyal tes strip <i>ferric chloride hexahydrate</i> setelah penambahan campuran aspirin/parasetamol.....	65
4.27. Profil sinyal tes strip <i>ferric chloride hexahydrate</i> setelah penambahan campuran aspirin/asam mefenamat.....	66
4.28. Profil sinyal tes strip <i>ferric chloride hexahydrate</i> setelah penambahan campuran parasetamol/asam mefenamat.....	67
4.29. Profil sinyal tes strip asam nitrat setelah penambahan campuran asam mefenamat/parasetamol.....	68

4.30. Profil sinyal tes asam nitrat setelah penambahan campuran parasetamol/aspirin.....	68
4.31. Profil sinyal tes strip asam nitrat setelah penambahan campuran aspirin/asam mefenamat.....	69
4.32. Profil sinyal tes strip mandelin setelah penambahan campuran parasetamol/aspirin.....	70
4.33. Profil sinyal tes strip mandelin setelah penambahan campuran aspirin/asam mefenamat.....	71
4.34. Profil sinyal tes strip metil merah setelah penambahan campuran parasetamol/asam mefenamat.....	73



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Perhitungan pH parasetamol 5 mg/mL.....	83
B. Perhitungan pH aspirin 5 mg/mL.....	84
C. Perhitungan pH asam mefenamat 5 mg/mL.....	85





## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar belakang

Perkembangan obat tradisional seperti jamu mendorong pertumbuhan industri jamu baik dalam skala pabrik maupun *home industry*. Perkembangan ini memberikan dampak pada kompetisi perdagangan jamu. Salah satu parameter yang digunakan dalam kompetisi tersebut adalah kualitas jamu. Kualitas jamu tersebut dapat dinilai dari segi khasiat. Persaingan produsen jamu yang tidak sehat menyebabkan maraknya pelanggaran prosedur dalam pembuatan jamu.

Badan POM mengeluarkan *public warning* pada tahun 2009 yang memerintahkan untuk menarik 60 (enam puluh) item produk obat tradisional dan suplemen makanan yang mengandung Bahan Kimia Obat (BKO) Sibutramin Hidroklorida, Sildenafil Sitrat, Tadalafil, Deksametason, Fenilbutason, Asam Mefenamat, Metampiron dan Parasetamol (BPOM RI, 2009). Menurut aturan BPOM, jamu harus berbahan tumbuh-tumbuhan alami sehingga tidak boleh dicampur zat sintesis atau kimia karena jika jamu dicampur dengan zat kimia, yang terasa adalah efek zat kimianya.

Salah satu jenis pelanggaran yang menarik yaitu penggunaan obat analgesik untuk jamu penghilang rasa nyeri. BKO yang digunakan tergolong obat analgesik jenis *Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs* (NSAIDs). Obat analgesik golongan ini diklasifikasikan menjadi beberapa kelas yakni turunan asam salisilat (aspirin, natrium salisilat), turunan para aminofenol (parasetamol/asetaminofen), turunan indol dan asam inden asetat (indometacin, sulindac), turunan asam heteroaril asetat (tolmetin, diklofenak, ketorolak), turunan asam arilpropionat (naproxen, ibuprofen, ketoprofen), turunan asam antranilat/ fenamat (asam mefenamat, asam meklofenamat), turunan asam enolat (piroxicam, fenilbutazon), turunan alkanon (nabumeton), dan turunan

pirazolon (antipyrin, aminopyrin, dipyrone) (Mario dkk, 2010). Analgetika lemah termasuk senyawa-senyawa yang memiliki kerja farmakologi utama analgetik yang berbeda dengan analgetika kuat seperti narkotika yang mempunyai kerja narkose (Ebel, 1992). Efek samping dari obat analgesik dapat berupa reaksi sensitivitas (contohnya urtikaria, ruam), toksisitas ginjal dan hati, ulkus gastrointestinal dan sebagainya. Obat analgesik yang digunakanpun tergolong analgetika lemah yang umumnya memiliki harga yang murah dan mudah didapatkan sehingga memberikan kemudahan bagi produsen dalam meracik jamu.

Masyarakat belum memiliki kesadaran untuk tidak mengonsumsi jamu yang memiliki efek cepat. Pengguna jamu umumnya merupakan masyarakat menengah ke bawah yang kurang memiliki pengetahuan terhadap bahaya bahan kimia obat. Oleh sebab itu, diperlukan alat atau metode untuk mengidentifikasi bahan kimia obat tersebut, sehingga informasi penyalahgunaan dapat cepat diterima dengan daya dukung yang memadai khususnya mengidentifikasi bahan obat dalam jamu.

Proses identifikasi dan penentuan asam mefenamat, aspirin, dan parasetamol memerlukan proses yang cukup lama dan rumit. Misalnya, untuk identifikasi dan penentuan parasetamol adalah dengan cara kolorimetri, polarografi dan gravimetri. Identifikasi asam mefenamat menggunakan metode spektrofotometri, dan kromatografi cair. Sedangkan aspirin dapat ditentukan dengan menggunakan metode spektrofotometri, kromatografi cair kinerja tinggi, dan metode GC MS (*Gas Chromatography Mass Spectrophotometry*). Metode-metode yang digunakan dalam penentuan sampel di atas membutuhkan peralatan yang mahal dan cukup rumit, prosedur yang bertahap, dan tentunya perlu didukung oleh laboran yang terlatih. Untuk itu perlu dikembangkan metode yang lebih sederhana baik dari sisi kemudahan proses analisa, murah, dan peralatan yang simpel.

Identifikasi kualitatif yang sering digunakan untuk mengidentifikasi senyawa obat yaitu *color spot test*. *Color spot test* merupakan metode analisis mikrokimia, kualitatif dan semi kuantitatif di mana reagen dan larutan yang akan dianalisa, digunakan dalam jumlah beberapa tetes. Tes menggunakan reaksi warna untuk

berbagai macam obat telah dilakukan dan distandarisasi menggunakan reagen spesifik dengan teknik *color spot test* oleh NIJ (*National Institute of Justice*). Analisis kualitatif atau identifikasi sampel *drug* semakin berkembang, analisis yang saat ini populer adalah menggunakan lembaran yang dicelupkan atau ditetesi sampel dan dengan pembacaan tertentu dapat mengidentifikasi suatu senyawa teknik ini dikenal dengan sebutan tes strip. Lembaran tes strip di dalamnya terdapat zat aktif yang dapat bereaksi secara spesifik dengan memberikan perubahan sifat elektrik atau optik, perubahan tersebut sebagai indikasi adanya sampel.

Test strip terdiri dari tiga komponen utama yaitu membran, reagen yang terimmobilisasi, dan alat pembaca atau pengukur (Aminah, 2011). Analisa dengan metode test strip memiliki beberapa kelebihan yakni sangat mudah, relatif cepat, murah, dan tergolong ramah lingkungan. Alat pendeteksi dalam bentuk test strip yang telah banyak berkembang saat ini menggunakan antibodi. Test tersebut didasarkan atas kemampuan untuk mengikat antibodi dengan selektif untuk satu atau sekelompok molekul. Identifikasi suatu senyawa dalam test tersebut memanfaatkan bantuan antigen. Salah satu kekurangannya adalah life time yang pendek/mudah rusak sehingga penggunaannya amat terbatas (Lee, 2002).

Aminah (2011) telah melakukan prototipe test strip yang didesain dengan menempatkan tes strip nitrat, ferri klorida, Mandelin, dan metil merah dalam satu series strip untuk mengidentifikasi keberadaan asam mefenamat, aspirin, dan parasetamol. Pembuatan masing – masing test strip dilakukan dengan cara mengimmobilisasi reagen spesifik (asam nitrat, ferri klorida, Mandelin, dan metil merah) secara entrapment pada polimer selulosa bakterial (nata de coco) dengan filler alumina. Prototipe test strip tersebut dapat mengidentifikasi dan membedakan keberadaan asam mefenamat, aspirin, dan parasetamol secara spesifik berdasarkan perubahan warna yang dihasilkan.

Pengembangan alat dapat dilakukan dari sisi modifikasi maupun pemanfaatan, dalam penelitian akan dilakukan kajian pemanfaatan test strip untuk uji coba bahan

analgesik parasetamol, aspirin, dan asam mefenamat di dalam jamu penghilang rasa nyeri seperti pegal linu, asam urat, flu tulang, dan rheumatik.

### **1.2 Rumusan masalah**

1. Apakah pelarut aquades dan kloroform layak digunakan untuk melarutkan parasetamol, aspirin, dan asam mefenamat dalam proses identifikasi?
2. Bagaimana kinerja prototipe test strip dalam mengidentifikasi bahan analgesik parasetamol, aspirin, dan asam mefenamat?
3. Bagaimana perbedaan kemampuan prototipe test strip untuk membedakan parasetamol, aspirin, dan asam mefenamat dalam jamu antara yang dipreparasi dengan filtrasi dan setelah proses ekstraksi?

### **1.3 Batasan masalah**

1. Sampel jamu dianalisis setelah melalui proses solvasi menggunakan pelarut aquades dan ekstraksi menggunakan pelarut kloroform.
2. Jamu yang akan diuji kandungan senyawa analgesiknya berupa jamu penghilang rasa nyeri (pegal linu, asam urat, flu tulang, rematik)
3. Pembuatan prototipe test strip mengikuti prosedur pembuatan prototipe test strip pada penelitian Siti Aminah, 2011.
4. Jamu yang dianalisis merupakan jamu yang memiliki masa kadaluarsa minimal 1 tahun.
5. Rasio komposisi larutan standar yang digunakan dalam uji pendahuluan untuk asam mefenamat, aspirin, dan parasetamol yakni 75 : 25, 50 : 50, dan 25 : 75 % (v/v).
6. Kinerja prototipe tes strip dapat dilihat dari parameter limit deteksi secara kualitatif, waktu respon, daya beda, dan interferensi analit.

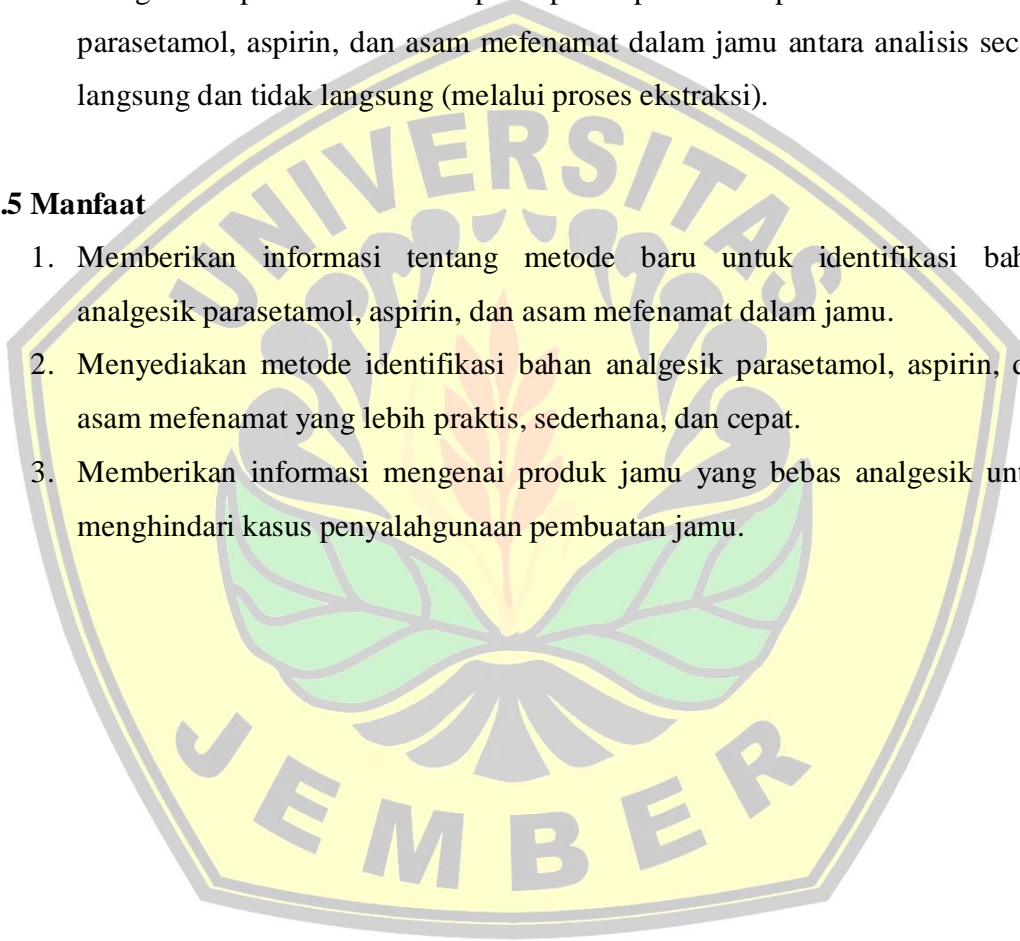


#### 1.4 Tujuan

1. Mengetahui pelarut yang layak digunakan untuk melarutkan parasetamol, aspirin, dan asam mefenamat dalam proses identifikasi secara kualitatif.
2. Mengetahui kinerja prototipe test strip dalam mengidentifikasi bahan analgesik parasetamol, aspirin, dan asam mefenamat dalam jamu.
3. Mengetahui perbedaan kemampuan prototipe test strip untuk membedakan parasetamol, aspirin, dan asam mefenamat dalam jamu antara analisis secara langsung dan tidak langsung (melalui proses ekstraksi).

#### 1.5 Manfaat

1. Memberikan informasi tentang metode baru untuk identifikasi bahan analgesik parasetamol, aspirin, dan asam mefenamat dalam jamu.
2. Menyediakan metode identifikasi bahan analgesik parasetamol, aspirin, dan asam mefenamat yang lebih praktis, sederhana, dan cepat.
3. Memberikan informasi mengenai produk jamu yang bebas analgesik untuk menghindari kasus penyalahgunaan pembuatan jamu.





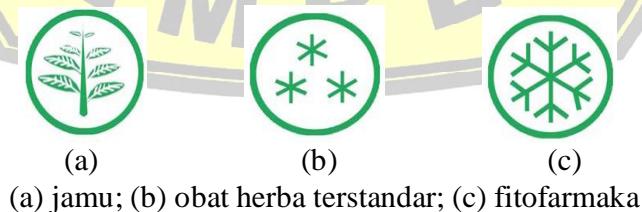
## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Jamu

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 dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku (Departemen kesehatan 2010). Berdasarkan cara pembuatan serta jenis klaim penggunaan dan tingkat pembuktian khasiat, Obat Bahan Alam Indonesia dikelompokkan menjadi tiga yakni jamu, Obat Herbal Terstandar, dan Fitofarmaka.

Jamu merupakan ramuan yang diperoleh dari bahan alam (tumbuhan dan hewan) yang digunakan secara turun temurun. Obat herbal terstandar adalah obat yang telah dilakukan standarisasi dan telah dilakukan uji pra klinik. Fitofarmaka adalah obat herbal yang telah dilakukan uji klinik secara lengkap. Fitofarmaka dapat digunakan dalam pelayanan kesehatan formal karena memiliki dukungan data ilmiah yang kuat berdasarkan uji klinik yang lengkap dan mengikuti prinsip-prinsip uji klinik yang baik.

Pengelompokan dan penandaan tersebut dinyatakan dalam bentuk gambar (logo) produk seperti pada gambar 2.1.



Gambar 2.1. Penandaan Obat Bahan Alam

Sumber: Surat keputusan BPOM,

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebagian besar jamu mengandung dua zat aktif yaitu immunomodulator dan anti oksidan (Sampurno, 2007). Komposisi zat aktif tersebut menyebabkan jamu bermanfaat untuk menjaga dan memelihara kesehatan, sehingga tidak mudah sakit karena sistem imunitas tubuh terpelihara dan berfungsi dengan baik.

Salah satu kriteria jamu menurut aturan Departemen Kesehatan Republik Indonesia yakni aman dan sesuai dengan persyaratan yang ditetapkan. Persyaratan yang telah ditetapkan salah satunya adalah tidak boleh dicampur (tidak boleh tercemar) zat sintetis atau kimia berkhasiat. Hal tersebut dikarenakan efek yang akan dirasakan oleh konsumen yakni efek zat kimianya.

## **2.2 Senyawa Analgesik**

Analgesik merupakan senyawa yang berfungsi untuk menekan rasa nyeri. Salah satu kelebihan dari analgesik yakni mampu menghilangkan rasa sakit pada pasien tanpa menyebabkan pasien kehilangan kesadaran (Cowan, 1978). Analgesik dibagi menjadi dua yakni analgesik kuat (tipe morfin) dan analgesik lemah. Analgesik lemah mempunyai kerja farmakologik analgesik. Senyawa analgesik juga menunjukkan kerja antipiretik, dan antireumatik (Ebel, 1992).

Berbeda dengan analgesik kuat, sebagian besar analgesik lemah tidak mempunyai kerja narkose yang ditunjukkan melalui rasa ketagihan terhadap jenis senyawa analgesik yang dikonsumsi. Namun, ada pula yang menunjukkan reaksi ketagihan seperti *abusus-fenacetin* (Ebel, 1992). Analgesik kuat seperti pada kelompok opioid bekerja pada sistem saraf pusat sedangkan analgesik lemah bekerja pada sistem saraf tepi (Katzung, 1994).

### **2.2.1 Klasifikasi Senyawa Analgesik**

Senyawa analgesik lemah dapat diklasifikasikan menjadi beberapa kelas, baik secara struktur kimia maupun menurut kerja selektivitasnya terhadap Isoenzim COX.

Secara kimia, analgetika lemah yang termasuk *Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs* (NSAID) digolongkan menjadi beberapa kelas seperti pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Klasifikasi Kimia *Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs* (NSAID)

Kelas	Obat
Turunan asam salisilat	Aspirin, Sodium salisilat, Kolin magnesium trisalisilat, salsalat, diflunisal, asam salisilsalisilat, sulfasalazin, olsalazin
Turunan p-aminofenol	Asetaminofen
Turunan Indol dan asam Inden asetat	Indometasin, sulindak, etodolak
Turunan asam heteroaril	Tolmetin, diklofenak, ketorolak
Turunan asam arilpropionat	Ibuprofen, naproksen, flurbiprofen, ketoprofen, fenoprofen, oxaprozin,
Turunan asam antranilat (fenamat)	Asam mefenamat, asam meklofenamat
Turunan asam enolat	Oxicam (piroxicam, tenoxicam), Pirazoldinedion (fenilbutazon, oksifentatrazon)
Turunan alkanon	Nabumetazon
Turunan pirazolon	Antipyrin, aminopyrin, dipyrone

Sumber: Mario dkk, 2010

Berdasarkan selektivitasnya analgesik lemah golongan *Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs* (NSAID) di klasifikasikan menjadi empat kelas seperti pada tabel 2.2.

Tabel 2.2 Klasifikasi NSAID berdasarkan selektivitasnya terhadap Isoenzim COX

Selektivitas	Obat
Inhibitor COX yang lemah	Asetaminofen, salsalat
Inhibitor COX-1 dan COX-2	Asam asetilsalisilat, piroxicam, indometasin, sulindak, tolmetin, ibuprofen, naproksen, fenoprofen, meklofenamat, asam mefenamat, diflunisal, ketoprofen,

Selektivitas	Obat
	diklofenak, ketorolak, etodolak, nabumetason, oksaprosen flurbiprofen
Inhibitor preferensial COX-2	Numesulida, meloksikam
Inhibitor selektif COX-2	Celecoxib, rofecoxib, valdecoxib, etoricoxib, parecoxib, lumiracoxim

Sumber: Mario dkk, 2010.

### 2.2.2. Mekanisme Kerja Senyawa Analgesik

Sejumlah senyawa yang mempunyai kemampuan sebagai analgesik dan anti inflamasi yang mampu menghambat (menghambat) enzim siklooksigenase (*cyclooxygenase enzymes/ COX*). Enzim tersebut berpengaruh pada metabolisme asam arachidonat yakni senyawa yang mampu menghasilkan mediator inflamasi seperti prostaglandin dan tromboksan (Mario dkk, 2010).

Mekanisme kerja analgesik terjadi dengan jalan menghambat kerja enzim siklooksigenase sehingga produksi prostaglandin menurun, akibatnya reaksi inflamasi atau stimulasi nyeri akan berkurang.

Ada dua tipe enzim siklooksigenase yakni COX-1 dan COX-2. Kebanyakan senyawa analgesik menghambat kedua jenis enzim siklooksigenase. *Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs* (NSAID) menghambat aktivitas enzim siklooksigenase/ COX yang mengkatalisis proses sintesis prostanoide oleh konversi asam arachidonat dan molekul oksigen menjadi prostaglandin H<sub>2</sub>. Senyawa analgesik yang menghambat enzim siklooksigenase tipe 1 (COX-1), akan meningkatkan reaksi gastrointestinal dan disfungsi platelet. Sedangkan inhibitor selektif COX-2 memberikan efek anti inflamasi dan analgesik tanpa menyebabkan gastrointestinal maupun disfungsi platelet (Hinz dkk, 2005).



### 2.2.3. Efek Toksik dan Bahaya Analgesik

*Non Steroidal Anti-Inflammatory Drugs* (NSAID) secara langsung memiliki efek toksik pada mukosa gastroduodenal dan efek tidak langsung metabolit aktif hati dan penurunan pada mukosa prostaglandin. Metabolit hati diekskresikan ke dalam empedu dan berikutnya pada duodenum sehingga terjadi refluks *duodenogastric* yang menyebabkan kerusakan mukosa baik pada duodenum maupun usus halus (Wolfe, 1999).

Selain gastrointestinal, senyawa analgesik pada umumnya memiliki efek dispepsia, urticaria (ruam kulit), diare, dan toksisitas ginjal dan hati. Seperti parasetamol, yang memiliki efek toksik pada hati yang menyebabkan nekrosis hati pada dosis tertentu. Sebagian besar parasetamol atau N-asetil-p-aminofenol terkonjugasi dengan asam glukoronat dan sulfat dan sebagian kecil dioksidasi oleh sistem sitokrom P-450 hati menjadi metabolit reaktif atau radikal bebas N-asetil-p-benzokuinonimina (NAPBKI) dan N-asetil-p-semikuinonimina (NAPSKI) di dalam hati. Metabolit tersebut mampu dimetabolisme oleh glutathion dalam hati dalam kadar yang cukup rendah.

Namun pada pemberian dosis toksik secara terus menerus, metabolit dapat menimbulkan kerusakan hati. Kedua metabolit reaktif tersebut sangat reaktif berikatan dengan hemoglobin membentuk senyawa methemoglobin (Met-Hb). Semakin banyak terbentuknya Met-Hb akan menyebabkan berkurangnya fungsi hemoglobin untuk mengikat oksigen, sehingga akan terjadi hipoksia sampai anoksia (kekurangan asupan oksigen). Mitokondria hati membutuhkan oksigen untuk metabolisme energi. Terganggunya pembentukan energi dalam proses metabolisme menyebabkan mitokondria tidak dapat memompa ion  $\text{Na}^+$ . Ketidakmampuan memompa tersebut akan menyebabkan terjadinya influks air ke dalam sel, sehingga sel tersebut akan membengkak dan kemudian pecah. Pecahnya sel-sel hepatosit yang kaya akan enzim transaminase menyebabkan terjadinya nekrosis hati (pecah dan matinya sel hati), sehingga enzim transaminase yang masuk ke dalam darah akan meningkat (Price dan Wilson, 1984).



### 2.3 Metode Standar Analisa Bahan Analgesik

Beberapa metode dapat digunakan untuk menganalisis bahan analgesik baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Analisis kuantitatif yang umum digunakan dalam analisa bahan analgesik yakni titrasi, potensiometri, spektrometri *ultraviolet-visible*, dan HPLC (*High Pressure Liquid Chromatography*), sedangkan analisis kualitatif biasanya digunakan uji bercak, TLC (*Thin Layer Chromatography*), dan identifikasi menggunakan reagen yang spesifik untuk bahan yang diuji.

Identifikasi kualitatif turunan anilin (asetaminofen, asetanilida, fenasetin, dsb) diidentifikasi secara khas melalui reaksi indofenol, sedangkan untuk analisa kuantitatif dapat dilakukan dengan cara gravimetri, kolorimetri, dan amperometri. Turunana antranilat (fenamat) seperti asam mefenamat, asam meklofenamat, dsb diidentifikasi dengan menggunakan reaksi oksidasi atau kondensasi yang mengubah struktur difenilamin. Reaksi dengan formaldehida dapat membentuk senyawa yang berfluorisensi sehingga metode ini juga dapat digunakan untuk penentuan kuantitatif. Reaksi Identifikasi turunan asam salisilat seperti aspirin dapat digunakan reaksi dengan  $\text{Fe}^{3+}$  yang membentuk warna biru sampai merah ungu tergantung dari jenis pelarut dan pH (Ebel, 1992).

Metode analisis bahan analgesik secara konvensional sudah mulai berkembang. Metode yang telah dikembangkan antara lain HPLC, voltametri, HPTLC, dan spektrometri. Metode penentuan aspirin dan parasetamol dengan spektrofotometer uv secara simultan merupakan metode yang spesifik, cepat, sederhana dan memberikan sensitivitas yang baik (Murtaza dkk, 2010).

HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) fasa terbalik merupakan salah satu metode yang sederhana, akurat, presisi dan reproduibel. Metode RP-HPLC sebagai metoda penentuan gabungan parasetamol dan piroksikam dalam tablet yang menghasilkan nilai yang akurat, tepat, linier, sederhana, cepat dan selektif (Fegade dkk, 2009). Sedangkan metode RP-HPLC untuk analisa kombinasi asam mefenamat dan drotaverin hidroklorida merupakan metoda yang lebih tepat, akurat,

kuat, sederhana dan cepat dibandingkan dengan metoda spektrofotometri uv (Anudeepa dkk, 2011).

Analisis secara voltametri dengan memodifikasi Tembaga II Heksasianoferat III (CuHCF) dengan elektroda pasta karbon dan diterapkan untuk penentuan analgesik (dipiron dan asetaminofen) memiliki tingkat sensitivitas dan selektifitas yang baik (Teixeira dkk, 2009).

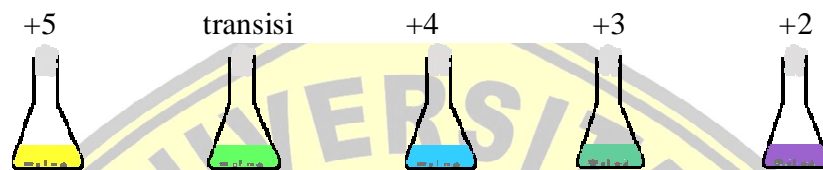
Selain memiliki kelebihan beberapa metode seperti titrasi, spektrometri, HPLC, potensiometri masih memiliki beberapa kekurangan seperti kerumitan preparasi serta analisisnya, waktu yang dibutuhkan terlalu lama. Selain itu, instrumen beberapa metode seperti HPLC memiliki harga yang sangat mahal dan butuh keahlian khusus (Dwiangga, 2010).

Metode penentuan kadar bahan analgesik juga dapat dilakukan dengan metode uji bercak yang kemudian dianalisis menggunakan sinar reflektan. Hasil penelitian metode reflektometrik untuk penentuan bahan analgesik jenis dipiron menunjukkan bahwa metode tersebut lebih cepat, sederhana, sedikit penggunaan reagen dan memenuhi parameter validitas suatu metode analisis (Weinert dkk, 2007).

#### **2.4 Metode Uji Bercak (*Color Spot Test*)**

*Color spot test* merupakan suatu metode analisis mikrokimia, kualitatif dan semi kuantitatif di mana kedua larutan yang akan dianalisa dan reagen, digunakan dalam jumlah beberapa tetes. Deteksi sampel tertentu memanfaatkan reaksi karakteristik warna yang dilakukan pada kertas filter, gelas arloji atau plat tetes. *Color spot test* menggunakan reagen yang mempunyai sensitivitas dan selektivitas yang besar sehingga memungkinkan untuk mendeteksi keberadaan sampel. Setiap zat memiliki reagen spesifik yang mampu untuk memberikan reaksi positif terhadapnya. Reagen spesifik memberikan perbedaan warna yang dihasilkan antara sampel satu dengan lainnya. Reagen spesifik yang digunakan adalah reagen Mandelin, asam nitrat pekat, reagen  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , dan metil merah.

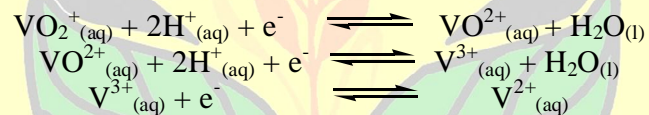
Reagen Mandelin terdiri dari campuran amonium vanadat dan asam sulfat. Reaksi antara reagen Mandelin dengan sampel yang berbeda akan menghasilkan warna yang berbeda pula. Adanya asam sulfat dan turunan benzena golongan hidroksi dan alkoksi dapat mereduksi vanadium secara terus menerus sampai pada tingkat bilangan oksidasi +2. Perubahan warna amomonium metavanadat akibat dari perubahan biloks ditunjukkan pada gambar 2.2.



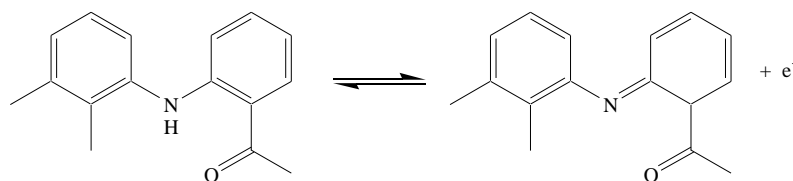
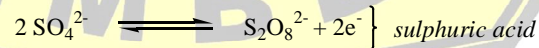
Gambar 2.2 Perubahan warna dari bilangan oksidasi +5,+4,+3,+2 vanadat

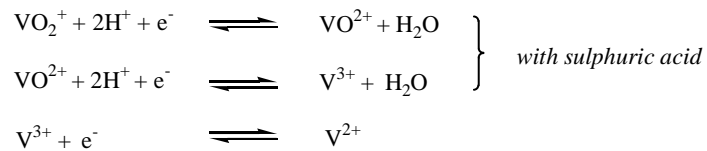
Sumber: Clark, 2003.

Berikut merupakan tahap reaksi reduksi yang terjadi pada vanadium (V) menjadi vanadium (II):



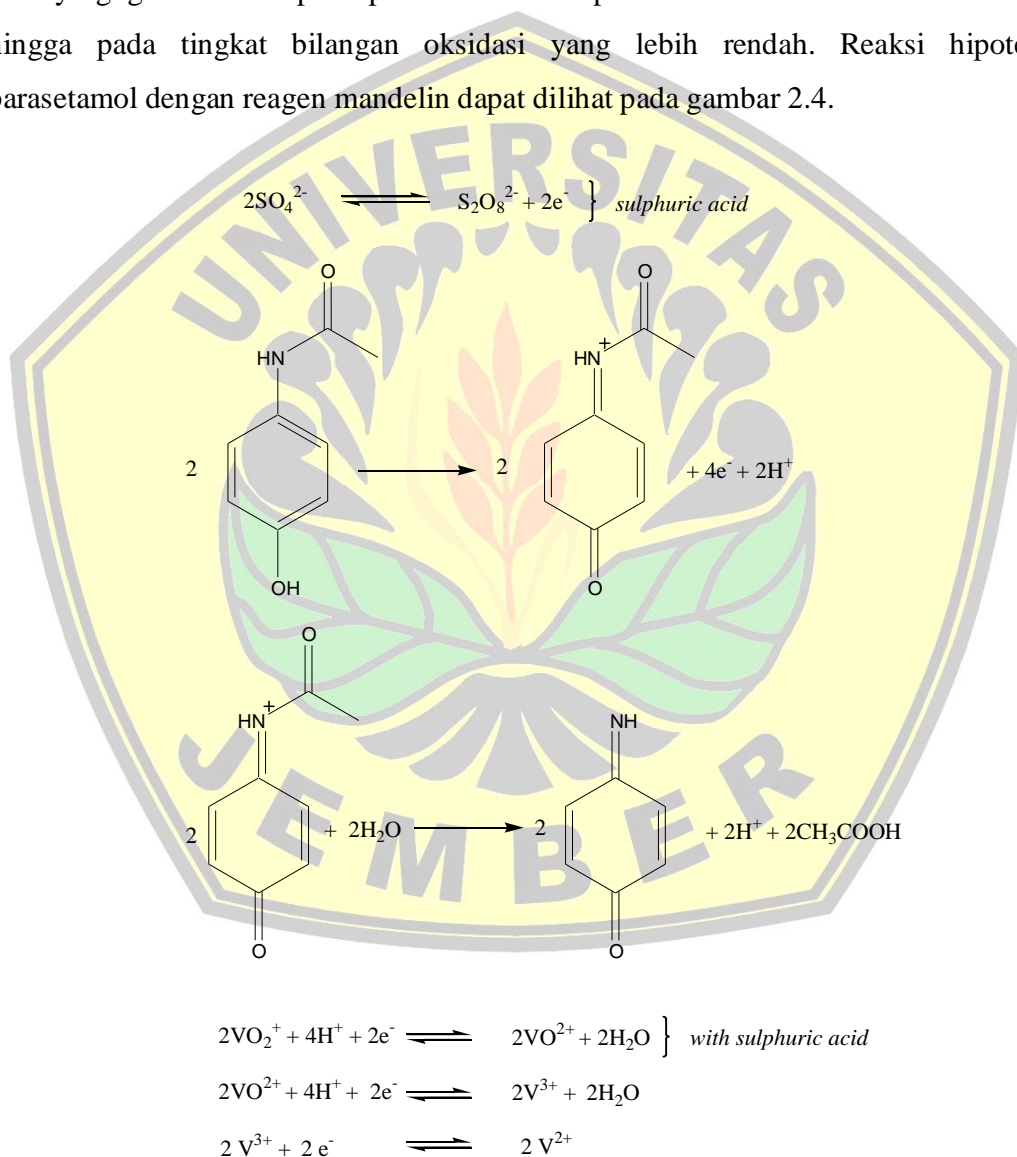
Keberadaan asam mefenamat juga mampu mereduksi vanadium lebih lanjut hingga pada tingkat bilangan oksidasi yang lebih rendah yang sebelumnya telah direduksi oleh asam sulfat. Reaksi hipotetik asam mefenamat dengan reagen mandelin dapat ditunjukkan pada gambar 2.3.





Gambar 2.3 Reaksi hipotetik asam mefenamat dengan reagen mandelin

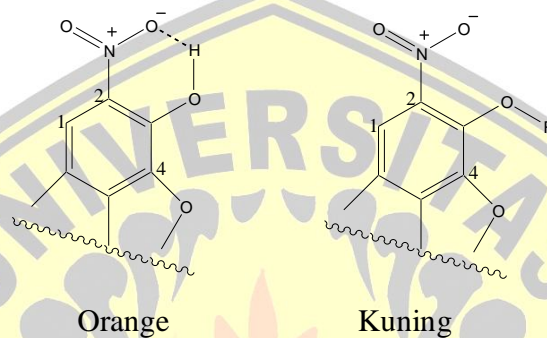
Adanya gugus hidroksi pada parasetamol mampu mereduksi vanadium lebih lanjut hingga pada tingkat bilangan oksidasi yang lebih rendah. Reaksi hipotetik parasetamol dengan reagen mandelin dapat dilihat pada gambar 2.4.



Gambar 2.4 Reaksi hipotetik parasetamol dengan reagen mandelin



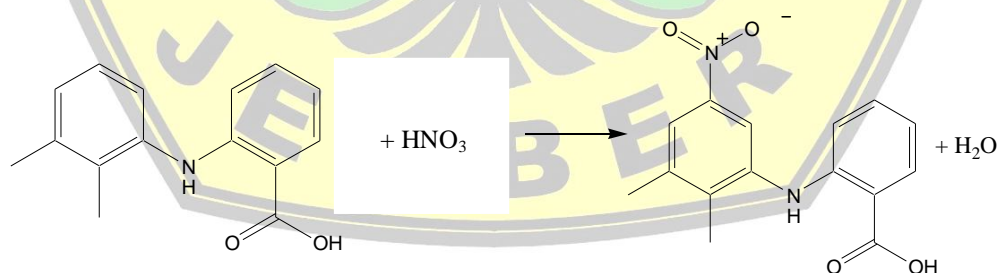
Beberapa obat dapat diidentifikasi dengan asam nitrat pekat melalui reaksi pembentukan warna. Reaksi antara asam nitrat pekat dengan beberapa obat, misalnya derivat O-tersubstitusi pada C-3 dan non substitusi adalah pada posisi 2 (gambar 2.5). Produk nitro pada non substitusi dalam bentuk ikatan hidrogen antara kelompok nitro dan kelompok hidroksil, ikatan tersebut tidak akan terjadi pada derivat O-tersubstitusi.



Gambar 2.5 Reaksi dengan asam nitrat pekat

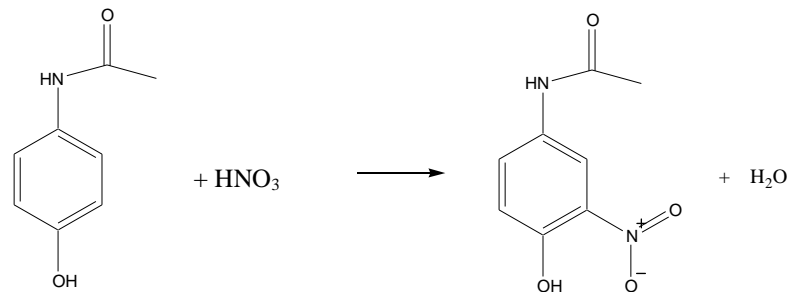
(Kovar dan Laudzun, 1989).

Reaksi antara asam nitrat pekat dengan parasetamol dan asam mefenamat ditunjukkan pada gambar 2.6 dan 2.7.



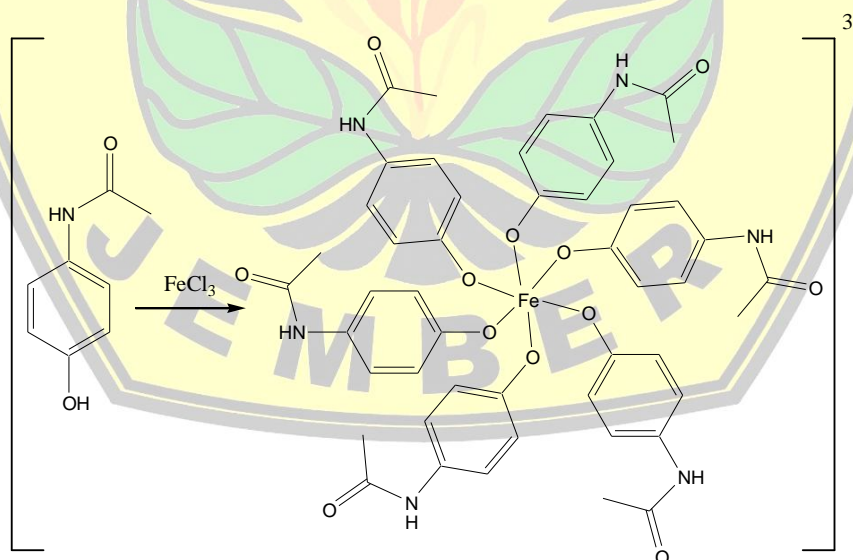
Gambar 2.6 Reaksi antara asam mefenamat dan reagen nitrat





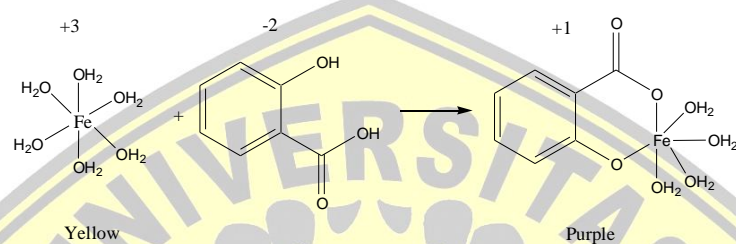
Gambar 2.7 Reaksi antara parasetamol dan reagen nitrat

Selain reagen mandelin dan nitrat ferri klorida juga banyak digunakan untuk mengidentifikasi berbagai macam senyawa khususnya senyawa analgesik baik analgesik tipe narkotik maupun non narkotik golongan *Nonsteroidal Anti Inflammatory Drugs* (NSAID). Misalnya penggunaan ferri klorida untuk identifikasi parasetamol membentuk kompleks berwarna kuning kehijauan yang gelap (*Dark greenish yellow*). Reaksi pembentukan kompleks Fe-parasetamol ditunjukkan pada gambar 2.8.



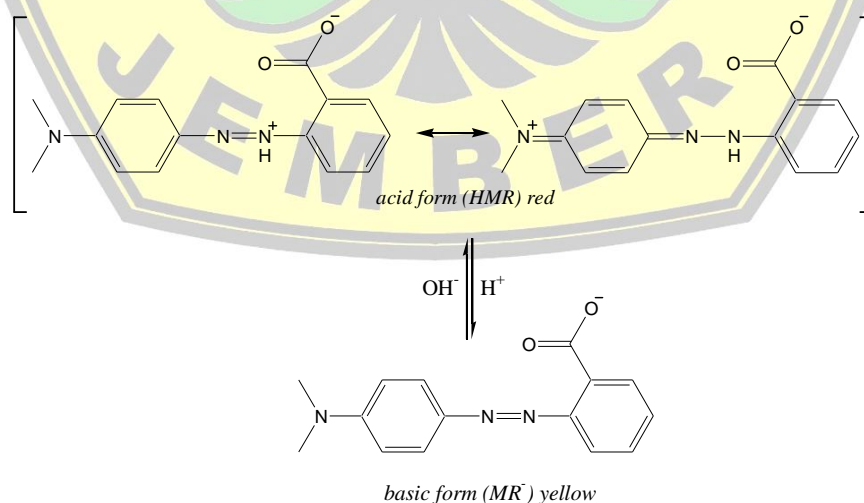
Gambar 2.8 Reaksi ferri klorida dengan parasetamol (Ouassou, 2010)

Aspirin komersial juga menghasilkan perubahan warna ketika direaksikan dengan ferri klorida yang membentuk senyawa kompleks berwarna ungu. Kompleks berwarna ungu tersebut diakibatkan oleh terjadinya reaksi ferri klorida dengan asam salisilat yang terkandung dalam aspirin komersial. Aspirin disintesis dari asam salisilat dan anhidrida asetat. Reaksi pembentukan kompleks tersebut ditunjukkan pada gambar 2.9.



Gambar 2.9 Reaksi ferri klorida dengan asam salisilat (Atienza. at all, 2010)

Metil merah merupakan indikator asam basa yang dapat digunakan sebagai reagen untuk identifikasi obat. Penggunaan metil merah didasari atas sifatnya sebagai mediator transfer elektron dalam proses oksidasi. Perubahan warna dikarenakan adanya perubahan nilai pH yang mengubah struktur indikator (Gambar 2.10). Rentang pH terjadinya perubahan warna metil merah berkisar antara 4,2 – 6,2 yakni merah ke kuning (Day & Underwood).



Gambar 2.10. Reaksi metil merah dengan penambahan ion hidronium

Analisis semikuantitatif dilakukan dengan membandingkan intensitas warna yang diperoleh dengan warna standar. Keunggulan dari teknik ini adalah dalam hal kecepatan, kesederhanaan peralatan, dan tingkat kepekaan yang tinggi (Aminah, 2011). Analisis kualitatif atau identifikasi sampel *drug* semakin berkembang, analisis yang saat ini populer adalah menggunakan lembaran yang dicelupkan atau ditetesi sampel dan dengan pembacaan tertentu dapat diketahui keberadaan morfin, teknik ini dikenal dengan sebutan tes strip.

## 2.5 Metode Analisa Tes Strip

### 2.5.1 Definisi Tes Strip

Test strip merupakan alat pendeteksi sederhana yang terdiri dari tiga komponen utama yaitu membran, reagen yang terimmobilisasi, dan alat pembaca atau pengukur. Membran adalah suatu lapisan berpori, biasanya berupa polimer yang digunakan sebagai matriks atau pendukung immobilisasi (Hall, 1990). Membran yang digunakan pada umumnya adalah polisulfon, polietersulfon, polivinilidin fluorida, poliakrilonitril, selulosa asetat, *bacterial cellulose*, poliamida, poliester keton, dan sebagainya (Wenten, 2000). Membran dapat dimodifikasi dengan menambahkan suatu *filler* (bahan pengisi). *Filler* yang umum digunakan adalah silika, alumina, dan kalsium karbonat.

Alat pendeteksi dalam bentuk test strip yang telah banyak berkembang saat ini menggunakan antibodi yang biasa dikenal dengan teknik *immunoassay*. Tes tersebut didasarkan atas kemampuan untuk mengikat antibodi dengan selektif untuk satu atau sekelompok molekul. Identifikasi suatu senyawa dalam test tersebut memanfaatkan bantuan antigen (Lee, 2002). Tes strip dengan teknik *immunoassay* tersebut sudah biasa digunakan dan dijual secara komersial untuk analisis obat-obatan yang memiliki tingkat selektivitas yang lebih baik sehingga memiliki visualisasi yang lebih baik. Pengujian tersebut menggunakan reaksi imunokimia spesifik antara antibodi dan antigen.

Tes strip modern pertama yang diperkenalkan adalah tes strip untuk uji urin oleh laboratorium Miles yang kemudian dikeluarkan oleh CLINISTIX® (Bayer Corporation) pada tahun 1950 yang berfungsi untuk mengukur glukosa dalam urin. Test strip yang dikembangkan tidak hanya untuk mendeteksi kadar glukosa, ada beberapa jenis tes strip untuk mengukur pH (*universal indicator*), pendeteksi kehamilan (ovules), logam berat, amonia, dan fosfat (Nabila, 2011). Berikut salah satu contoh tes strip urin untuk identifikasi sepuluh parameter seperti glukosa, bilirubin, keton, berat jenis, darah, pH, protein, urobilinogen, nitrit dan leukosit yang dikeluarkan oleh Bayer Cliniteks 5 dapat dilihat pada gambar 2.11.



Gambar 2.11 Tes strip urin  
Sumber: [uveradiagnostics.com](http://uveradiagnostics.com)

Analisa dengan metode test strip merupakan metode yang tergolong sangat mudah dan relatif cepat. Penggunaan test strip cukup dengan cara mencelupkan membran ke dalam sampel (larutan uji) atau dengan meneteskan sampel pada permukaan membran. Proses identifikasi atau deteksi dapat berlangsung karena adanya reaksi antara sampel dengan reagen yang terimmobilisasi di dalam membran (Aminah, 2011).

Tes strip sangat berguna untuk proses *screening* karena mampu memberikan hasil yang cepat mengenai konsentrasi bahan yang ada pada sampel dan sebagai alat pra seleksi. Analisis tes strip merupakan metode yang tergolong cepat dan murah.



Analisis dengan metode tes strip juga merupakan analisis yang tergolong ramah lingkungan karena di dalam test strip hanya mengandung sedikit reagen dan membran sebagai material pendukung (Merck, tanpa tahun).

### 2.5.2 Penggunaan Tes Strip dalam Obat

Penggunaan test strip dalam mengidentifikasi obat sudah banyak dikembangkan. Namun pada pengembangannya masih menggunakan sistem immunoassay. Penggunaan test strip dalam obat pada umumnya adalah test-strip yang berfungsi untuk mendeteksi adanya obat-obatan golongan narkotika misalnya methamphetamine, mariyuana, codein, morfin, cocain, methadone dan sebagainya. Tes tersebut merupakan pengujian *immunoassay* yang cepat untuk pendeteksian obat-obatan dan hasil metabolimanya di dalam urin. *Immunoassay* juga sering digunakan untuk mendeteksi suatu penyakit seperti diabetes, tuberkulosis, demam berdarah, HIV, dan sebagainya.

Roy et al, 1997 menyatakan bahwa strip yang dibuat dari proses impregnasi larutan besi (III) klorida pada sebuah kertas saring mampu digunakan untuk analisa kualitatif parasetamol. Metoda tersebut lebih murah dan tidak perlu menggunakan pelarut pembang berbahaya seperti halnya uji kualitatif dengan metoda KLT.

Tes strip yang dibuat dengan cara immobilisasi reagen spesifik seperti reagen mandelin, ferri klorida, nitrat, dan metil merah secara entrapment memiliki kemampuan untuk mengidentifikasi dan membedakan secara spesifik keberadaan asam mefenamat, aspirin, dan parasetamol (Aminah, 2011).

Tes strip tersebut memiliki limit deteksi yang beragam sesuai dengan jenis obat dan strip yang digunakan. Limit deteksi untuk strip Mandelin adalah 0,25 mg/mL untuk sampel asam mefenamat dan 5 mg/mL untuk sampel parasetamol. Limit deteksi untuk test strip nitrat adalah 1 mg/mL untuk sampel asam mefenamat dan 1 mg/mL untuk parasetamol. Limit deteksi untuk tes strip ferri klorida adalah 0,25 mg/mL untuk sampel aspirin dan 5 mg/mL untuk parasetamol. Limit deteksi untuk test strip metil merah adalah 0,5 mg/mL untuk sampel aspirin (Aminah, 2011).



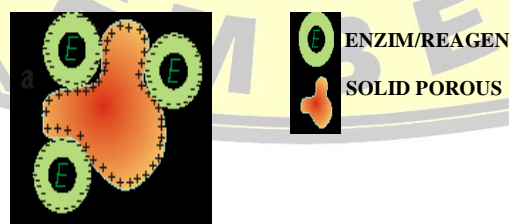
## 2.6 Immobilisasi reagen ke dalam polimer

Immobilisasi adalah memasukkan/ memerangkap reagen sensitif pada suatu material/matriks pembawa sinyal. Pemakaian istilah immobilisasi dikarenakan reagen yang digunakan adalah reagen yang tidak bergerak aktif. Beragam teknik immobilisasi telah dikenal diantaranya: adsorpsi, entrapment, mikroenkapsulasi, *cross-linking*, dan ikatan kovalen (Kuswandi, 2001).

### 2.6.1 Adsorpsi

Teknik immobilisasi adsorpsi ini sangat sederhana dengan persiapan yang sangat sederhana (Eggins, 1997). Interaksi yang terjadi antara reagen dengan membran sangat lemah. Interaksi itu berupa gaya Van der Waals atau ikatan ionik (Kunin, 1991). Zat yang mengadsorpsi disebut adsorben, sedangkan zat yang teradsorpsi disebut adsorbat (Suwandari, 2004)

Proses adsorpsi secara umum dibagi menjadi dua macam yakni adsorpsi secara fisika (*physical adsorption: physisorption*) dan kimia (*chemical adsorption: chemisorption*), dalam fisiosorpsi terjadi ikatan yang sangat lemah melalui gaya Van der Waals, dapat pula berupa ikatan hidrogen dan gaya elektrostatis antara reagen dengan matriks polimer. Kemosorpsi memiliki ikatan yang lebih kuat yang pada umumnya reagen dengan matriks polimer terikat secara ikatan kovalen. Metode ini hanya sesuai untuk masa penyelidikan yang pendek.



Gambar 2.12 Teknik immobilisasi adsorpsi

Sumber : Chaplin, 2004

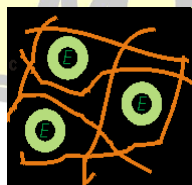
Faktor yang mempengaruhi besar kecilnya peristiwa adsorpsi pada umumnya yakni jenis adsorben, jenis zat yang diadsorpsi, konsentrasi, luas permukaan, suhu, dan tekanan. Adsorben yang memiliki permukaan yang luas, maka adsorpsinya juga akan semakin besar. Sifat adsorpsi pada permukaan zat padat sangat aktif dan sangat selektif, artinya pada campuran zat hanya satu komponen yang diadsorpsi oleh zat padat tertentu. Makin besar konsentrasi, suhu dan tekanan maka akan semakin besar pula adsorpsinya dan selanjutnya berhenti setelah seluruh bidang muka adsorben tertutup (Alloway, 1995).

### 2.6.2 Entrapment

Teknik immobilisasi entrapment merupakan teknik immobilisasi dimana reagen dijerap dalam sebuah matriks polimer (Kuswandi, 2001). Pada metode ini, reagen diperangkap di dalam sel-sel membran, sehingga proses preparasi membutuhkan teknik yang sangat spesifik.

Penambahan *plastizer* akan menghasilkan ikatan silang pada polimer yang digunakan. Ikatan silang yang terbentuk akan mengakibatkan terbentuknya ruang kosong dalam rantai polimer yang membatasi bagian rantai hingga terfasilitasi, dan menambah kelenturan polimer (Chaplin, 2004).

Kelemahan dari teknik ini yaitu adanya hambatan difusi analit sehingga reaksi berjalan lambat dan berpengaruh pada waktu respon sensor dan juga menghambat aktivitas material karena adanya ikatan silang dengan polimernya (Eggins, 1997).



Gambar 2.13 Teknik immobilisasi *entrapment*

Sumber : Chaplin, 2004

### 2.6.3 Mikroenkapsulasi

Mikroenkapsulasi adalah metode immobilisasi dimana reagen material diperangkap ke dalam membran inert yang selanjutnya dilekatkan pada transduser. Membran dapat melindungi reagen sehingga menghasilkan sensor yang tahan terhadap perubahan pH, temperatur, *ionic strength*, dan secara tidak langsung membran memiliki ukuran pori-pori yang relatif kecil sehingga hanya dapat dilewati oleh molekul yang berukuran kecil gas dan ion (Eggins, 1997).



Gambar 2.14 Teknik immobilisasi enkapsulasi

Sumber : Chaplin, 2004

Keuntungan metode ini adalah reagen yang terperangkap dalam membran berada dalam keadaan terkontak langsung dengan transduser, mudah dipreparasi, mudah dirawat, stabil dan tidak mudah terdegradasi, serta mudah dikembangkan. Membran yang sering digunakan adalah selulosa asetat, polikarbonat, kolagen politetrafluoroetilen (teflon), nafion, dan poliuretas (Eggins, 1997).

### 2.6.4 Cross-Linking

Teknik immobilisasi *cross-linking* merupakan teknik dimana reagen diikat secara kimia dengan membran atau bahan pendukung padat lainnya. Senyawa dengan dua gugus fungsi (*bifunctional reagent*) dapat mengikat sisi bioaktif molekul dan membran atau bahan pendukung lainnya. Kekurangan dari teknik ini adanya kerusakan pada kespesifikan reagen, hasil ikatan merupakan senyawa yang sangat rigid, dan adanya limit difusi (Eggins, 1996).



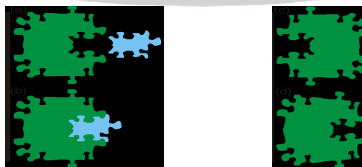
Gambar 2.15 Teknik immobilisasi *cross-linking*

Sumber : Chaplin, 2004

### 2.6.5 Ikatan Kovalen

Immobilisasi dengan teknik ikatan kovalen merupakan teknik terbentuknya ikatan antara gugus fungsi material pada matriks pendukungnya. Teknik ini memerlukan kondisi yang dapat dikontrol seperti pada temperatur rendah, memiliki kekuatan ionik yang kecil dan pH netral. Kelebihan dari teknik ini adalah ikatan yang terjadi sangat kuat sehingga tidak terjadi pelepasan material pada matriksnya (Eggins, 1997). Ikatan kovalen secara praktis adalah mengikat reagen dengan ikatan kovalen baik secara langsung dengan serat optik atau pada matriks pendukung padatan (Kuswandi, 2001).

Ikatan kovalen dirancang dengan memberikan gugus fungsi terhadap membran ataupun bahan pendukung lainnya sehingga memungkinkan terjadinya ikatan antara bioaktif molekul dengan gugus fungsi yang ditambahkan. Bagian dari bioaktif molekul yang akan dikaitkan bukan merupakan sisi aktif (katalis). Metode ini menggunakan gugus-gugus nukleofilik untuk kopling kimia seperti gugus  $-NH_2$ ,  $-COOH$ ,  $-OH$ ,  $-SH$ , dan *imidazole* pada enzim (Eggins, 1996).



Gambar 2.16 Teknik immobilisasi ikatan kovalen

Sumber : Chaplin, 2004.



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Pelaksanaan kegiatan penelitian berlangsung di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember, laboratorium Kimia Analitik dan Kimia Organik. Kegiatan dilaksanakan bulan April – November 2012.

### 3.2 Alat

Alat-alat yang dipergunakan untuk keperluan preparasi dalam penelitian ini seperti gelas kimia, pipet volume, pipet ukur Mohr, labu ukur, gelas ukur, labu erlenmeyer, kertas saring, corong, spatula pengaduk, *bulb* pipet, pompa vakum-corong Buchner, blender, corong pisah, labu alas bulat, dan rotaroevaporator R30 Buchi. Untuk analisa dan identifikasi dipergunakan peralatan pipet tetes, plat tetes dan instrument berupa kamera digital 14 SONY Mpixel dan Spektrofotometer reflektan Vernier. Peralatan pendukung lainnya baik untuk preparasi dan analisa meliputi botol semprot, neraca ohaus *analytical plus*, lemari pendingin, dan stirer. Seluruh peralatan menggunakan peralatan yang ada di Laboratorium.

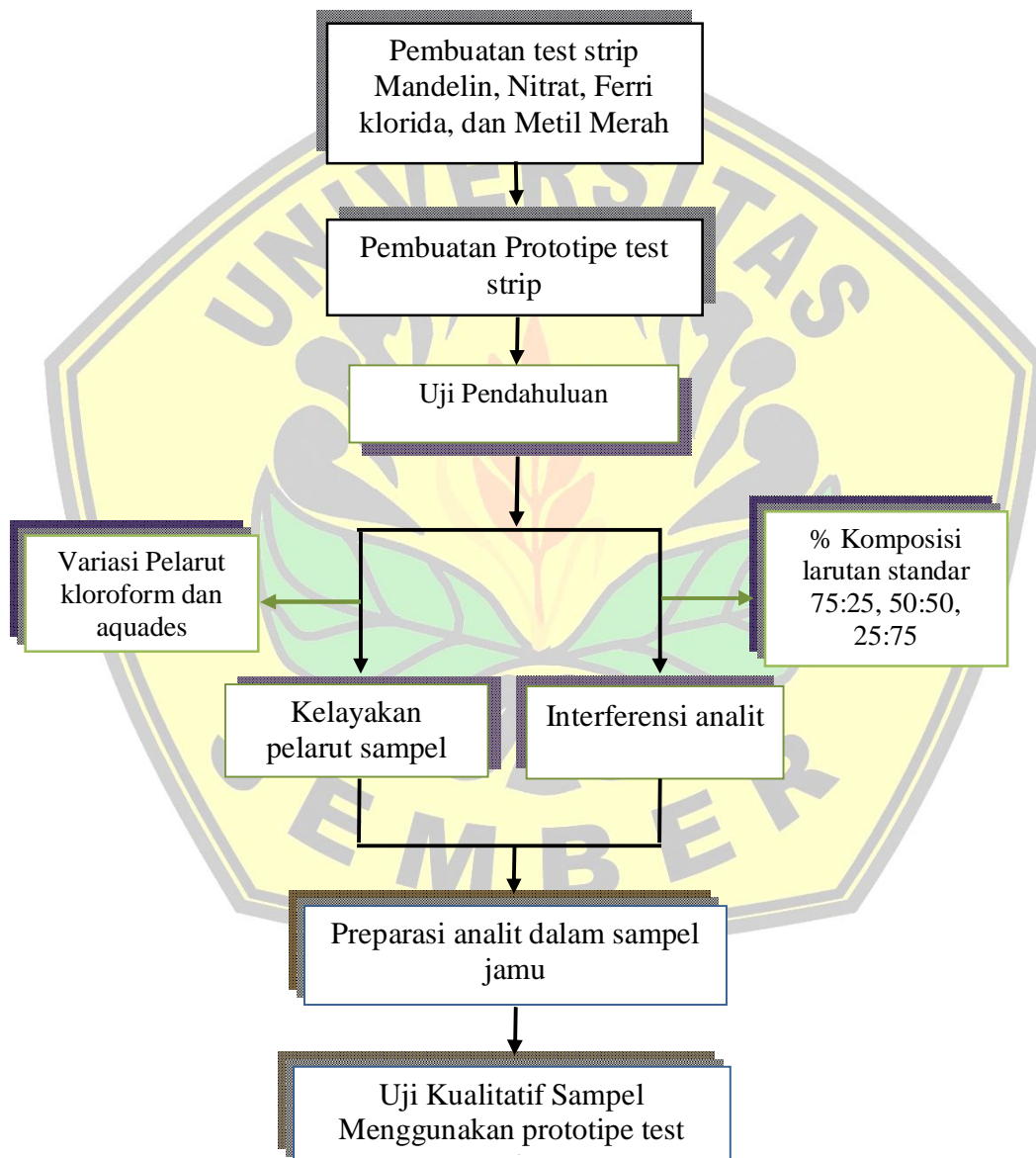
### 3.3 Bahan

Bahan kimia yang dipergunakan untuk keperluan preparasi test strip meliputi bahan dasar membran yaitu *bacterial cellulose* (nata de coco) hasil produksi SMK Negeri 1 Sukorambi dan beberapa reagen seperti asam nitrat 65% dari Merck, *Sulphuric acid* ( $H_2SO_4$ ) dari Merck,  $Al_2O_3$  dari Merck, *ferric chloride hexa-hydrate* ( $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ) dari Merck, metil merah dari Riedel-de Haën, ammonium metavanadat dari Riedel-de Haën, *Sodium Hydroxide* dari Merck, phenolptalhein dari Merck, Etanol 98% dari Merck, kertas lakmus, aquades dan aquademin. Bahan untuk keperluan analisis dan identifikasi antara lain sampel jamu yang diduga mengandung



zat-zat analgesik, *Sodium Carbonate* dari Merck, kloroform (p.a) dari Merck, sedangkan larutan standart yang dipergunakan adalah parasetamol, asam mefenamat dan aspirin.

### 3.4 Diagram Alir Penelitian



Gambar 3.1. Diagram Alir Penelitian

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Pembuatan Reagen

##### a. Reagen Mandelin

Pembuatan reagen Mandelin dilakukan dengan cara melarutkan 1 gram ammonium metavanadat ke dalam 100 mL asam sulfat 6 M. Asam Sulfat 6 M diperoleh dengan cara menambahkan sebanyak 33,7 mL asam sulfat 95-98% (b/b) melalui dinding labu yang berisi air secara perlahan dan sambil diaduk hingga volume larutan 100 mL. Konsentrasi reagen Mandelin yang diperoleh setara dengan 0,78 % (b/b).

##### b. Reagen Asam Nitrat

Reagen asam nitrat merupakan reagen yang penggunaannya secara langsung menggunakan asam nitrat pekat 65% (b/b).

##### c. Reagen $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Preparasi reagen  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  dilakukan dengan cara melarutkan 3,3 gram *ferric chloride hexa-hydrate* dalam 100 mL aquademin. Konsentrasi reagen  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  setara dengan 3,19 % (b/b). Reagen *ferric chloride hexa-hydrate* siap digunakan untuk preparasi tes strip.

##### d. Reagen Metil Merah

Larutan induk reagen metil merah dipreparasi dengan cara melarutkan 0,05 gram metil merah ke dalam aquades hingga volume mencapai 200 mL dan disimpan dalam botol kaca yang gelap. Reagen metil merah dengan konsentrasi  $10^{-4}$  M dibuat dengan cara mengencerkan sebanyak 5,4 mL larutan induk dalam aquades hingga volume larutan menjadi 50 mL. Reagen metil merah siap digunakan untuk preparasi tes strip.

### 3.5.2 Pembuatan test strip

#### a. Pemurnian Nata de coco (*Bacterial Cellulose*)

Nata de coco dicuci dengan air mengalir selama 24 jam. Nata de coco selanjutnya direndam menggunakan larutan NaOH 2% selama kurang lebih satu hari pada suhu kamar. Kemudian dicuci kembali dengan aquades sampai pH netral. pH netral dapat diketahui dengan cara meneteskan indikator phenolptalein pada setiap air cucian nata de coco pasta hingga terjadi perubahan warna dari merah muda menjadi tidak berwarna. Nata de coco kemudian dipotong kecil dan diblender sampai halus membentuk pasta

#### b. Immobilisasi Reagen dalam Nata de coco- $\text{Al}_2\text{O}_3$

Immobilisasi reagen dilakukan secara entrapment. Teknik entrapment dapat dikatakan berhasil jika warna pada membran yang terbentuk sama dengan warna reagen yang digunakan. Nata de coco hasil pemurnian di tambah dengan  $\text{Al}_2\text{O}_3$  dengan komposisi seperti pada tabel 3.1 hingga beratnya 5 gram. Kemudian ditambahkan reagen dan diaduk hingga homogen. Selanjutnya dicetak menggunakan corong Buchner selama 15 menit sehingga dihasilkan test strip.

Tabel 3.1 Perbandingan komposisi Nata de coco-Alumina pada tiap test strip

Jenis test strip	Komposisi (%)	
	Nata de coco	Alumina
Mandelin	90	10
Nitrat	100	0
Ferri klorida	90	10
Metil merah	95	5

c. Prototipe *test strip*

Prototipe test strip dapat dibuat dengan cara menempatkan empat test strip ke dalam satu series strip. Masing-masing strip di dalamnya berisi reagen yang berbeda-beda. Bentuk prototipe test strip dapat dilihat pada gambar 3.2



Gambar 3.2. Rancangan Prototipe test strip (Aminah, 2011)

Keterangan:

Strip 1 : Tes strip mandelin

Strip 2 : Tes strip nitrat

Strip 3 : Tes strip ferri klorida

Strip 4 : Tes strip metil merah

### 3.5.3 Uji Pendahuluan

#### a. Kelayakan Pelarut Sampel

Pengujian dilakukan dengan cara meneteskan larutan standart pada tes strip dan diamati perubahan warnanya. Larutan Standar dipersiapkan dengan melarutkan parasetamol, asam mefenamat dan aspirin sebanyak 0,05 g ke dalam 10 mL pelarut. Dua jenis pelarut yang dipergunakan adalah kloroform dan aquades. Pemilihan pelarut tersebut didasarkan pada kemampuan pelarut dalam melarutkan analit dan memediasi munculnya perubahan warna test strip pada penelitian Siti Aminah, 2011. Selanjutnya larutan standar diuji, perubahan warna yang paling mencolok dan



signifikan berbeda dengan yang lain dinyatakan sebagai pelarut yang terbaik, perubahan warna diikuti menggunakan kamera. Pelarut tersebut selanjutnya digunakan untuk mempersiapkan analit yang berasal dari sampel jamu. Waktu respon masing-masing tes strip terhadap larutan standar juga diamati melalui mikroskop kamera. Waktu respon tersebut kemudian diterjemahkan secara kualitatif berdasarkan range seperti pada tabel 3.2.

Tabel 3.2 Klasifikasi waktu respon secara kualitatif

Waktu respon	Keterangan
0 – 5 menit	Cepat
5 – 10 menit	Sedang
> 10 menit	Lama

b. Interferensi dua komponen

Pengujian interferensi dua komponen dilakukan dengan cara meneteskan larutan yang mengandung dua komponen pada tes strip. Komposisi tersebut dapat dilihat pada tabel 3.3

Tabel 3.3 Perbandingan komposisi dua jenis larutan

Jenis larutan	Komposisi (% v/v)		
Asam mefenamat : Aspirin	75 : 25	50 : 50	25 : 75
Aspirin : Parasetamol	75 : 25	50 : 50	25 : 75
Asam mefenamat : Parasetamol	75 : 25	50 : 50	25 : 75

Selanjutnya larutan yang mengandung 2 komponen tersebut diuji perubahan warna dan diukur reflektansinya dilakukan triplo. Kemudian dibandingkan perubahan warna dan spektra reflektansinya antara tes strip hasil immobilisasi reagen tanpa penambahan larutan standar, setelah penambahan larutan standar, dan setelah penambahan larutan yang mengandung dua komponen.

### 3.5.4 Preparasi analit dalam sampel jamu

#### a. Proses solvasi dan filtrasi

Proses solvasi dilakukan menggunakan pelarut aquades. Dalam hal ini, analit dipersiapkan dengan cara melarutkan 5 gram sampel jamu ke dalam 100 mL pelarut. Selanjutnya, dilakukan penyaringan dengan kertas saring Whatman no 41. Bagian filtrat diambil dan siap untuk diidentifikasi menggunakan test strip.

#### b. Proses ekstraksi

Filtrat sebanyak 100 mL dimasukkan ke dalam corong pemisah (*Separatory Funnels*) dan di tambahkan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga larutan bersifat basa. Perubahan pH dapat diamati dengan menguji larutan menggunakan kertas lakmus. Kemudian larutan dipindahkan ke dalam corong pemisah 500 mL dan ditambahkan sebanyak 20 mL kloroform. Larutan dikocok dan sesekali kran dibuka untuk mengurangi tekanan yang meningkat. Corong pisah diklem dan dibiarkan beberapa saat agar terbentuk dua lapisan cairan. Kemudian cairan bawah (fraksi kloroform) dikeluarkan dan ditampung dalam erlenmeyer 40 mL. Cairan yang tersisa di dalam corong pemisah (fraksi air) diekstraksi dengan 20 mL kloroform sekali lagi dan fraksi organik yang didapat ditampung ke dalam erlenmeyer yang sama.

#### c. Proses evaporasi

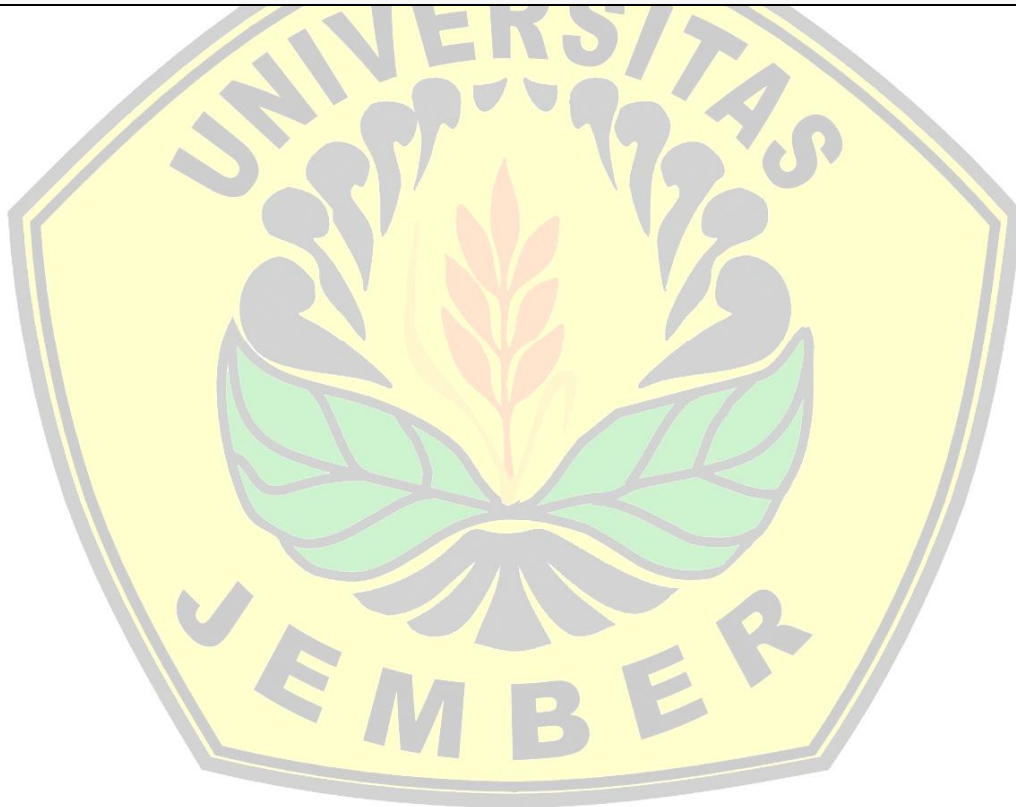
Larutan ekstrak dimasukkan ke dalam labu alas bulat dan di evaporasi menggunakan rotaroevaporator hingga ekstrak menjadi serbuk. Kemudian dilarutkan menggunakan pelarut sesuai dengan pelarut pada proses uji pendahuluan. Larutan siap untuk diidentifikasi menggunakan test strip.

Sampel jamu yang digunakan dalam penelitian ditetapkan berdasarkan merek dagang yang paling banyak diminati dan dikonsumsi oleh masyarakat seperti yang tertera dalam tabel 3.4. Respon tes strip pada sampel jamu kemudian

dibandingkan dengan respon tes strip pada larutan standar yang telah dilakukan sebelumnya. Identifikasi analit dalam sampel jamu dilakukan triplo.

Tabel 3.4. Jenis Sampel Jamu yang Diidentifikasi

No	Kode	Nama Jamu	Produsen	No Registrasi
1.	J1	Pegal linu wantong	PJ Herbalindo SN	TR. 07337501
2.	J2	Purba Salima Flu Tulang Tengah	PJ Candi Sari, Jawa Tengah	TDP. 1108260024



## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses identifikasi parasetamol, aspirin, dan asam mefenamat dilakukan dengan menggunakan tes strip. Tes strip didesain dengan mengimmobilisasi reagen ke dalam membran nata de coco (*bacterial cellulose*) –  $\text{Al}_2\text{O}_3$  secara entrapment. Komposisi membran mengacu pada teknik yang telah dikembangkan oleh Siti Aminah (2010).

Kajian lanjut dilakukan dengan mengembangkan *prototype test strip* berupa empat strip secara series, dimana tes strip mengandung reagen yang berbeda. Dalam penelitian ini digunakan empat reagen yakni *ferric chloride hexahydrate*, mandelin, asam nitrat pekat, dan metil merah.

Uji kinerja tes strip dilakukan dengan meneteskan sampel ke permukaan tes strip. Keberhasilan tes strip mengidentifikasi analit ditunjukkan dengan perubahan warna yang dimonitor dengan kamera digital SONY 1,4 Mpixel. Uji kinerja tes strip juga dilakukan dengan menggunakan Spektrophotometer reflektansi *Vernier SpectroVis Plus* yang memberikan indikasi turunnya nilai intensitas.

Uji tes strip dalam real sampel selanjutnya dipelajari dengan menggunakan jamu anti nyeri, baik secara langsung maupun di dahului dengan perlakuan terhadap sampel.

### 4.1 Kelayakan Pelarut Sampel

Pengujian dilakukan dengan melarutkan parasetamol, aspirin, dan asam mefenamat standart ke dalam dua jenis pelarut yaitu aquades dan kloroform. Larutan standart selanjutnya diteteskan ke permukaan tes strip secara individual dan perubahan warna yang terjadi dibandingkan dengan hasil yang dilaporkan oleh Siti



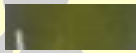


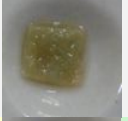






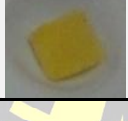
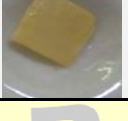


Aminah (2010) serta dibandingkan pula dengan hasil warna standart dari NIJ. Secara sederhana hasil yang diperoleh disajikan sebagai berikut.

#### 4.1.1 Parasetamol

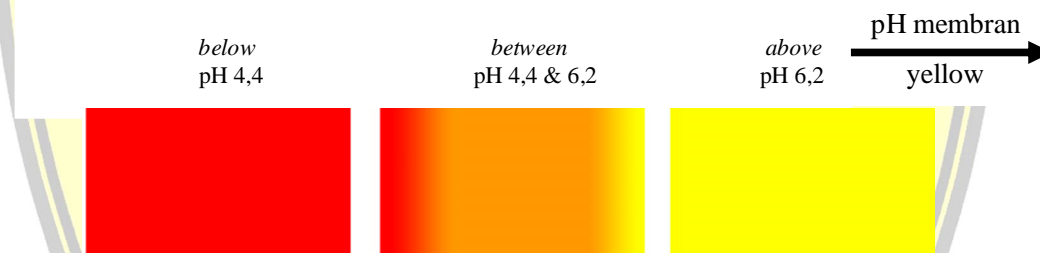
Parasetamol yang dilarutkan menggunakan pelarut akuades memberikan reaksi pembentukan warna yang spesifik ketika diteteskan pada test strip yang di immobilisasi dengan reagen *ferric chlorida hexahydrate*, asam nitrat, dan mandelin. Hasil reaksi dapat dilihat pada tabel 4.1

Tabel 4.1. Hasil reaksi parasetamol dengan tes strip

No	Tes strip	Perubahan warna reaksi dengan parasetamol*pelarut air		Warna Pemanding	
		sebelum	sesudah	Aminah 2010	NIJ 2000
1	<i>Ferric chloride hexahydrate</i>				
2	Mandelin				
3	Asam Nitrat				
4	Metil merah			→ + →	Tidak diketahui

Berdasarkan tabel 4.1 diketahui bahwa pada tes strip *ferric chloride hexahydrate* terbentuk kompleks berwarna abu-abu. Namun pada konsentrasi parasetamol yang lebih kecil akan dihasilkan warna kuning gelap yang sesuai dengan NIJ 2000. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Siti Aminah (2010) melalui *color spot test* yang menunjukkan terbentuknya warna abu – abu di bagian tepi dan kuning gelap di bagian tengah. Reagen asam nitrat dapat bereaksi dengan parasetamol menghasilkan perubahan warna menjadi oranye kekuningan (*briliant orange yellow*).

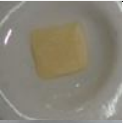













Peningkatan konsentrasi parasetamol, akan menghasilkan warna oranye pekat (*deep orange*). Warna yang dihasilkan dari reaksi parasetamol dengan tes strip mandelin yakni hijau kecoklatan (*moderate olive*), sedangkan pada tes strip metil merah tidak menghasilkan perubahan warna. Berdasarkan hasil perhitungan pada lampiran A diketahui bahwa pH larutan parasetamol yakni 5,7. Metil merah yang dilarutkan dalam air dan diimmobilisasi di dalam membran sudah mengalami deprotonasi sehingga warna indikator bergeser ke arah kuning. Hal tersebut mengakibatkan pergeseran warna ke arah merah oleh penambahan asam, dalam hal ini parasetamol yang memiliki pH 5,7 menurunkan pH membran. Penurunan pH oleh penambahan parasetamol tidak begitu tajam, sehingga metil merah yang terprotonasi hanya sedikit yang menyebabkan perubahan warna indikator masih berada pada rentang kuning hingga oranye yang tidak dapat diamati secara kasat mata. Perubahan warna indikator metil merah dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1. Warna indikator metil merah

Parasetamol yang dilarutkan menggunakan pelarut akuades berbeda dengan parasetamol yang dilarutkan menggunakan kloroform. Parasetamol yang dilarutkan menggunakan pelarut kloroform memberikan reaksi pembentukan warna yang spesifik hanya pada tes strip nitrat. Parasetamol lebih sukar larut dalam pelarut kloroform dibandingkan dalam air. Hal tersebut mengakibatkan konsentrasi larutan parasetamol dalam kloroform lebih rendah, sehingga memberikan hasil reaksi/perubahan yang berbeda dengan parasetamol dalam akuades. Hasil reaksi dapat dilihat pada tabel 4.2

Tabel 4.2. Hasil reaksi parasetamol dengan tes strip

No	Tes strip	Perubahan Warna reaksi dengan parasetamol *pelarut kloroform		Warna Pemanding	
		sebelum	sesudah	Aminah 2010	NIJ 2000
1	<i>Ferric chloride hexahydrate</i>				
2	Mandelin				
3	Asam Nitrat				
4	Metil merah			→	Tidak diketahui

Berdasarkan tabel di atas diketahui bahwa ada beberapa perbedaan warna hasil reaksi antara reagen dengan parasetamol yang dilarutkan menggunakan pelarut kloroform. Tes strip asam nitrat mengalami reaksi warna dengan parasetamol menghasilkan warna oranye yang sesuai dengan NIJ 2000, namun berbeda dengan hasil pada uji color spot tes Siti Aminah (2010) yang menyebutkan tidak adanya perubahan warna. Pada tes strip metil merah dan *ferric chloride hexahydrate* tidak mengalami reaksi warna seperti *color spot test* yang dilakukan Siti Aminah (2010).

Berdasarkan hasil perhitungan pada lampiran A diketahui bahwa pH larutan parasetamol 5 mg/ml yakni 5,7. Konsentrasi parasetamol dalam kloroform dalam hal ini lebih rendah karena kelarutannya dalam kloroform yang lebih rendah dibandingkan kelarutannya dalam air, sehingga dapat diperkirakan larutan parasetamol dalam kloroform memiliki pH > 5,7. Metil merah yang dilarutkan dalam air dan diimmobilisasi di dalam membran sudah mengalami deprotonasi sehingga warna indikator bergeser ke arah kuning. Hal tersebut mengakibatkan pergeseran warna ke arah merah oleh penambahan asam, dalam hal ini parasetamol yang memiliki pH > 5,7 mengakibatkan kurang tajamnya penurunan pH oleh penambahan

parasetamol, sehingga metil merah yang terprotonasi hanya sedikit yang menyebabkan perubahan warna indikator masih berada pada rentang kuning hingga oranye yang tidak dapat diamati secara kasat mata. Tes strip *ferric chloride hexahydrate* tidak mengalami perubahan warna dengan parasetamol dalam kloroform disebabkan tidak terbentuknya senyawa kompleks Fe dengan ligan p-aminofenol. Dengan kata lain, senyawa kompleks dalam sistem tidak mengalami perubahan ligan. Pada tes strip mandelin, parasetamol yang dilarutkan dalam pelarut kloroform kurang memberikan perubahan warna sehingga pada konsentrasi kecil, parasetamol tidak akan memberikan perubahan warna. Hal tersebut dikarenakan kurang larutnya parasetamol dalam kloroform yang bersifat volatil. Volatilitas pelarut menyebabkan waktu yang dibutuhkan pelarut untuk menguap lebih pendek dibandingkan waktu yang diperlukan parasetamol untuk mereduksi vanadium hingga tingkat bilangan oksidasi yang lebih rendah sehingga tidak tampak adanya reaksi antara parasetamol dengan reagen mandelin.

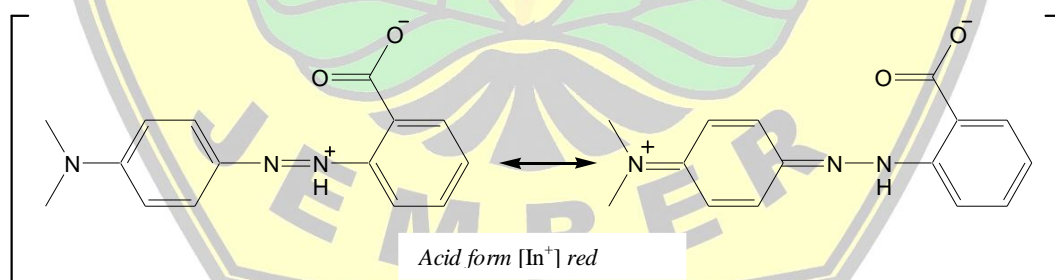
Dari keseluruhan reaksi antara tes strip dengan parasetamol baik yang dilarutkan menggunakan pelarut air maupun kloroform dapat dinyatakan bahwa aquades (air) layak digunakan sebagai pelarut parasetamol dalam proses identifikasi menggunakan tes strip, sedangkan pelarut kloroform dinyatakan kurang layak digunakan sebagai pelarut.

#### 4.1.2 Aspirin

Aspirin yang dilarutkan dengan pelarut air juga memberikan perubahan warna yang spesifik pada tiap tes strip. Namun, perubahan warna yang spesifik hanya terjadi pada tes strip metil merah dan *ferric chloride hexahydrate*. Warna yang dihasilkan dari reaksi antara aspirin dengan *ferric chloride hexahydrate* yakni ungu gelap (*deep purple*). Hal tersebut tidak sesuai dengan NIJ 2000 yakni tidak terjadi perubahan warna, dimana color spot test yang dilakukan NIJ langsung menggunakan serbuk aspirin, serta tidak dilakukan pengujian dalam kondisi reagen terimmobilisasi. Namun hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Siti Aminah (2010).



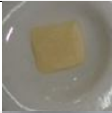
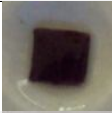








Hasil sesuai karena aspirin yang digunakan pada penelitian Siti Aminah (2010) merupakan aspirin komersial yang kemungkinan memiliki senyawa samping yakni asam salisilat (senyawa utama dalam sintesis aspirin). Warna yang dihasilkan dari reaksi larutan aspirin komersial dengan *ferric chloride hexahydrate* disebabkan adanya transisi elektronik pada orbital d yang menyebabkan terbentuknya senyawa kompleks yang menyerap gelombang cahaya kuning-hijau sekitar 570 nm dan menampilkan warna komplementer (gelombang cahaya yang tidak diserap) sekitar 410 nm yakni warna ungu. Sedangkan warna yang dihasilkan dari reaksi antara aspirin dan metil merah yaitu merah muda. Berdasarkan hasil perhitungan pada lampiran B, diketahui bahwa pH larutan aspirin yakni 2,51. Metil merah yang dilarutkan dalam air dan diimmobilisasi di dalam membran sudah mengalami deprotonasi sehingga warna indikator bergeser ke arah kuning. Hal tersebut mengakibatkan pergeseran warna ke arah merah oleh penambahan asam, dalam hal ini aspirin yang memiliki pH 2,51 yang dapat menurunkan pH. Penurunan pH oleh penambahan aspirin yang tajam, menyebabkan transfer elektron sehingga metil merah mengalami protonasi yang menyebabkan perubahan warna indikator menjadi merah muda yang dapat diamati secara kasat mata (Gambar 4.2).



Gambar 4.2 Metil merah terprotonasi

Warna yang dihasilkan dari reaksi tes strip mengindikasikan bahwa tes strip yang mampu mengidentifikasi keberadaan aspirin hanya tes strip metil merah dan *ferric chloride hexahydrate*. Hasil reaksi dapat dilihat pada tabel 4.3

Tabel 4.3 Hasil reaksi antara tes strip dengan aspirin

No	Tes strip	Perubahan Warna reaksi dengan aspirin *pelarut air		Warna Pemanding	
		sebelum	sesudah	Aminah 2010	NIJ 2000
1	<i>Ferric chloride hexahydrate</i>				tidak diketahui
2	Mandelin			+→	+→
3	Asam Nitrat			+→	+→
4	Metil merah				tidak diketahui

Warna yang dihasilkan seperti gambar pada tabel 4.3 tidak berbeda jauh dengan hasil reaksi antara tes strip dengan aspirin yang dilarutkan menggunakan pelarut kloroform. Perbedaan warna hanya terdapat pada intensitas warna yang dihasilkan. Hasil reaksi dapat dilihat pada tabel 4.4.

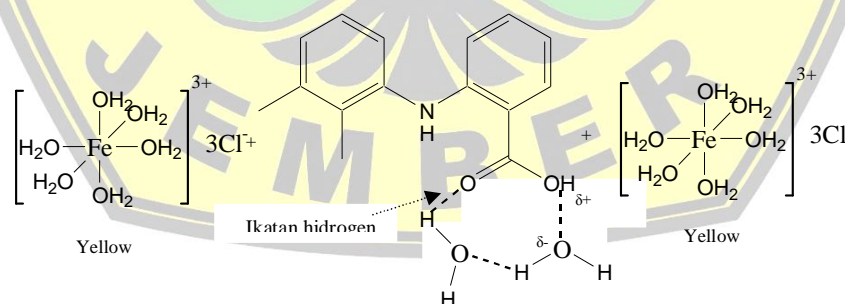
Tabel 4.4. Hasil reaksi antara tes strip dengan aspirin

No	Tes strip	Perubahan Warna reaksi dengan aspirin *pelarut kloroform		Warna Pemanding	
		sebelum	sesudah	Aminah 2010	NIJ 2000
1	<i>Ferric chloride hexahydrate</i>				tidak diketahui
2	Mandelin			+→	+→
3	Asam Nitrat			+→	+→
4	Metil merah				tidak diketahui

Berdasarkan tabel 4.4. diketahui bahwa perubahan warna juga terjadi pada strip metil merah dan *ferric chloride hexahydrate*. Namun perubahan warna tersebut tidak begitu tajam dibandingkan dengan menggunakan pelarut aquades. Perbedaan intensitas warna yang dihasilkan dari reaksi antara aspirin dengan dua pelarut yang berbeda disebabkan perbedaan struktur senyawa kompleks yang dibentuk sehingga serapan warna bergeser ke panjang gelombang yang lebih rendah atau tinggi. Dalam hal ini, dapat disimpulkan bahwa pelarut yang layak digunakan untuk proses identifikasi yakni pelarut aquades (air).

#### 4.1.3 Asam Mefenamat

Pada proses identifikasi asam mefenamat yang dilarutkan dengan pelarut air tidak memberikan perubahan warna pada tiap tes strip. Pada tes strip metil merah tidak terjadi perubahan warna yang disebabkan pH larutan tidak berada pada pH trayek kerja metil merah sehingga tidak terjadi proses transfer elektron dari gugus  $-N(CH_3)_2$  yang terdapat pada metil merah. Sedangkan pada tes strip *ferric chloride hexahydrate* tidak terjadi perubahan warna akibat tidak terbentuknya senyawa kompleks baru seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.3.






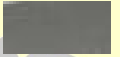





Gambar 4.3 Reaksi *ferric chloride hexahydrate* dengan asam mefenamat dalam air

Walaupun asam mefenamat dapat membentuk ikatan hidrogen dengan air, asam mefenamat tidak larut dalam air. Kelarutan asam mefenamat dalam air yakni

0,0041 g/100 ml (25°C). Kurang larutnya asam mefenamat dalam air menyebabkan konsentrasi asam mefenamat dalam larutan sangat kecil menjadikan asam mefenamat sukar menggantikan ligan H<sub>2</sub>O pada Fe. Adanya pelarut air juga mampu menginduksi asam mefenamat sehingga asam mefenamat menjadi kurang negatif. Hal tersebut berakibat pada semakin lemahnya kekuatan asam mefenamat sebagai ligan. Oleh sebab itu, asam mefenamat dalam pelarut air tidak dapat bereaksi menghasilkan senyawa kompleks dengan Fe. Dengan demikian, ligan yang terikat pada Fe tetap H<sub>2</sub>O. Hal ini mengindikasikan bahwa pelarut air tidak layak digunakan dalam proses identifikasi asam mefenamat. Hasil reaksi antara tes strip dengan asam mefenamat yang dilarutkan dengan pelarut air dapat dilihat pada tabel 4.5.

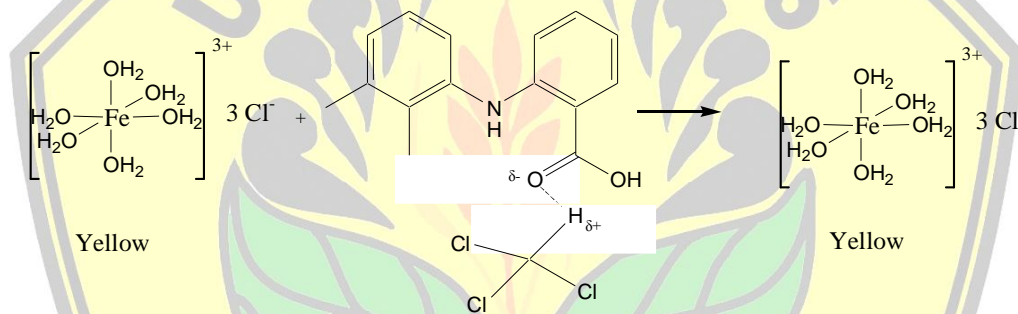
Tabel 4.5. Hasil reaksi tes strip dengan asam mefenamat

No	Tes strip	Perubahan Warna reaksi dengan asam mefenamat *pelarut air		Warna Pembanding	
		sebelum	Sesudah	Aminah 2010	NIJ 2000
1	<i>Ferric chloride hexahydrate</i>			➔	 *serbuk
2	Mandelin				
3	Asam Nitrat				
4	Metil merah			➔	tidak diketahui

Berdasarkan tabel di atas diketahui bahwa reaksi yang dihasilkan dalam penelitian ini memiliki kesamaan dengan hasil reaksi yang diperoleh dari penelitian Siti Aminah (2010) melalui *color spot test* yang menyatakan bahwa pelarut air tidak mampu memediasi reaksi pembentukan warna antara asam mefenamat dengan reagen *ferric chloride hexahydrate*, asam nitrat, mandelin dan metil merah.



Asam mefenamat yang dilarutkan dengan kloroform mengalami perubahan warna ketika sampel diteteskan pada strip asam nitrat dan mandelin. Keberadaan asam mefenamat tidak menghasilkan perubahan warna pada tes strip *ferric chloride hexahydrate* dan metil merah. Adanya kloroform akan menginduksi asam mefenamat menjadi kurang negatif sehingga mengurangi kekuatan medan ligan asam mefenamat. Hal tersebut mengakibatkan asam mefenamat tidak mampu menggantikan H<sub>2</sub>O (air) sebagai ligan pada Fe. Oleh sebab itu, tidak terjadi reaksi pembentukan kompleks asam mefenamat dengan *ferric chloride* seperti pada gambar 4.4. Tes strip metil merah juga tidak mengalami perubahan warna ketika direaksikan dengan asam mefenamat dalam kloroform. Hal tersebut mengindikasikan pH asam mefenamat dalam kloroform tidak sesuai dengan trayek kerja metil merah.

















Gambar 4.4. Reaksi *ferric chloride* dengan asam mefenamat dalam kloroform

Asam mefenamat tidak menunjukkan perubahan warna pada tes strip metil merah. Berdasarkan hasil perhitungan pada lampiran C diketahui bahwa pH larutan asam mefenamat yakni 2,94. Metil merah yang dilarutkan dalam air dan diimmobilisasi di dalam membran sudah mengalami deprotonasi sehingga warna indikator bergeser ke arah kuning. Hal tersebut mengakibatkan pergeseran warna ke arah merah oleh penambahan asam, dalam hal ini asam mefenamat yang memiliki pH 2,94 akan menurunkan pH membran. Penurunan pH oleh penambahan asam mefenamat kurang begitu tajam, sehingga metil merah kurang terprotonasi yang menyebabkan perubahan warna indikator masih berada pada rentang kuning hingga oranye yang tidak dapat diamati secara kasat mata. Hasil reaksi antara asam

mefenamat dalam pelarut kloroform dengan masing-masing reagen terimmobilisasi sesuai dengan penelitian Siti Aminah (2010). Hasil reaksi dapat dilihat pada tabel 4.6.

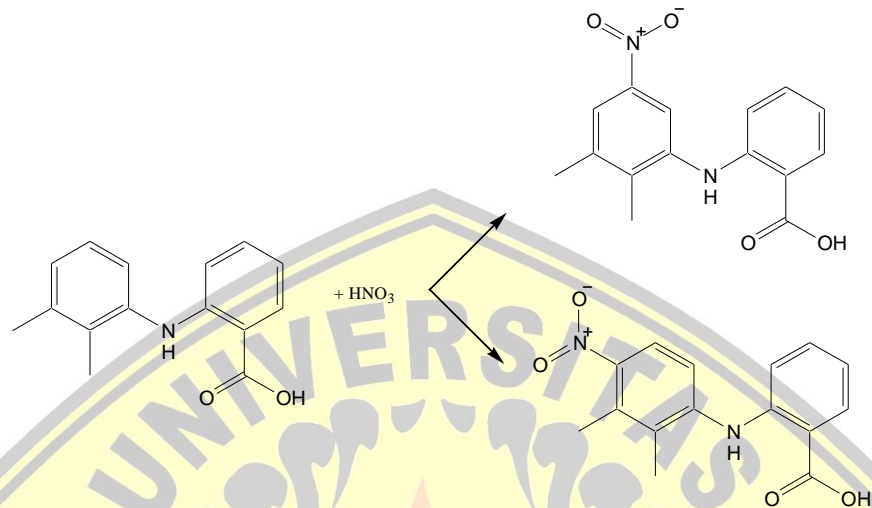
Tabel 4.6. Hasil reaksi antara tes strip dengan asam mefenamat

No	Tes strip	Perubahan Warna reaksi dengan asam mefenamat *pelarut kloroform		Warna Pemanding	
		sebelum	sesudah	Aminah 2010	NIJ 2000
1	<i>Ferric chloride hexahydrate</i>			➔	 *serbuk
2	Mandelin			 ↓ 	
3	Asam Nitrat				 *serbuk
4	Metil merah			➔	tidak diketahui

Berdasarkan tabel di atas, diketahui bahwa data yang didapatkan sesuai dengan warna hasil reaksi *color spot test* pada penelitian Siti Aminah (2010), namun berbeda dengan warna standar NIJ 2000. Asam mefenamat hanya bereaksi dengan tes strip mandelin menghasilkan warna hijau tua pada mula-mulanya dan teroksidasi lebih lanjut membentuk warna coklat keabuan (*grayish olive*) yang sesuai dengan warna standar NIJ 2000.

Tes strip asam nitrat bereaksi menghasilkan warna kuning yang berbeda dengan warna standar NIJ 2000 yang menyatakan asam mefenamat bereaksi dengan asam nitrat membentuk warna oranye pekat (*deep orange*). Warna standar dihasilkan dari reaksi serbuk asam mefenamat dengan asam nitrat pekat melalui *color spot test*. Perbedaan warna standar NIJ dengan warna pada penelitian disebabkan perbedaan posisi substituen pada reaksi substitusi elektrofilik yang terjadi pada senyawa aromatik, dalam hal ini asam mefenamat serbuk dan larutan asam mefenamat.

Substitusi elektrofil  $\text{NO}_2^-$  memiliki kemungkinan untuk tersubstitusi pada C-5 dan C-6. Reaksi tersebut dapat digambarkan secara hipotetik pada gambar 4.5.

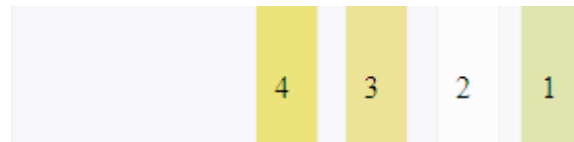


Gambar 4.5. Reaksi hipotetik asam mefenamat dengan asam nitrat

Interaksi dengan pelarut yang terkandung pada sistem juga mempengaruhi pergeseran panjang gelombang akibat kestabilan ikatan yang menyebabkan perubahan energi. Perubahan energi itulah yang mempengaruhi serapan gelombang cahaya sehingga panjang gelombang dapat bergeser. Dengan demikian, pelarut yang layak digunakan untuk proses identifikasi adalah kloroform.

#### 4.2. Pengembangan *Prototype test strip*

Pengembangan *prototype test strip* dilakukan dengan menyusun empat tes strip yang berbeda pada satu series strip. Urutan tes strip pertama yaitu test strip dengan reagent mandelin yang terimobilisasi, kedua test strip yang di dalam terdapat reagen asam nitrat yang terimobilisasi. Test strip selanjutnya adalah yang mengandung *ferric chloride hexahydrate* terimobilisasi dan yang terakhir adalah tes strip dengan metal merah yang terimobilisasi. Model *prototype test strip* yang dikembangkan disederhanakan pada gambar 4.6



Gambar 4.6 Model *prototype test strip*

*Prototype* ini dapat mengidentifikasi secara khas setiap sampel, dalam mendeteksi parasetamol, test strip akan memberikan perubahan warna yang berbeda-beda untuk setiap strip. Perubahan warna yang ditunjukkan *prototype test strip* ketika larutan standart parasetamol diteteskan ke permukaan test strip diketahui sebagai berikut, pada series strip pertama menghasilkan perubahan warna menjadi hijau kecoklatan (*moderate olive*, series strip kedua terjadi perubahan warna menjadi oranye, series strip ketiga menjadi abu-abu dan series strip yang terakhir tidak mengalami perubahan tetap kuning jingga. *Prototype* juga diuji dengan membandingkan perubahan warna untuk larutan standar yang menggunakan pelarut air dan kloroform. Hasil menunjukkan bahwa pelarut air lebih menunjukkan perubahan warna yang tajam, dibandingkan pelarut kloroform.

Pada uji kelayakan untuk sampel aspirin, *prototype test strip* memberikan perubahan warna yang berbeda dengan parasetamol. Urutan perubahan warna sebagai berikut, setelah keempat series strip ditetesi larutan standart aspirin terjadi perubahan warna hanya terjadi pada series ketiga dan keempat, sedangkan pada series pertama warna tetap kuning kehijauan dan series yang kedua tetap berwarna putih. *Prototype* diuji dengan membandingkan perubahan warna hasil reaksi untuk larutan standar yang menggunakan pelarut air dan kloroform. *Prototype* juga memberikan karakteristik yang sama dengan yang pertama yaitu lebih baik menggunakan pelarut air dibandingkan dengan kloroform, dimana perubahan warna yang menggunakan pelarut air lebih tajam dibandingkan pelarut kloroform.








Dalam pengujian asam mefenamat, juga dapat memberikan perbedaan yang signifikan dengan pengujian parasetamol dan aspirin. *Prototype test strip* memberikan perubahan warna pada series pertama yakni terbentuknya warna hijau



kecoklatan dan pada series kedua menjadi kuning, sedangkan pada series ketiga dan keempat, *prototype* tidak mengalami perubahan warna. Uji penggunaan pelarut air dan kloroform dalam menyiapkan larutan standar juga dilakukan, hasil menunjukkan bahwa penggunaan pelarut kloroform lebih memberikan perubahan warna yang lebih signifikan dibandingkan pelarut air.

Atas dasar hasil ini dapat disimpulkan bahwa *prototype* berhasil membedakan tiga jenis sampel dalam bentuk larutan standar, dimana pengujian parasetamol dan aspirin menggunakan pelarut air dan pengujian asam mefenamat menggunakan kloroform. Hasil uji *prototype test strip* disajikan dalam tabel 4.7 di bawah ini.

Tabel 4.7. Hasil reaksi *prototype* dengan parasetamol, aspirin, dan asam mefenamat

No	Pelarut	<i>Prototype yang ditetesi sampel</i>			
		Parasetamol	Aspirin		Asam Mefenamat
Sebelum					
		4 3 2 1			
1	Aquades				
keterangan		(+) Strip 1,2,3			
2	Kloroform				
keterangan		(+) Strip 2			
3	Aquades				
keterangan		(+) Strip 3, 4			
4	Kloroform				
keterangan		(+) Strip 3,4			
5	Aquades				
keterangan		(-) strip 1-4			
6	Kloroform				
keterangan		(+) strip 1, 2			

### 4.3 Kinerja Tes Strip

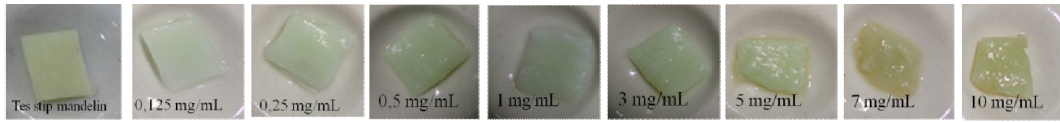
Suatu tes strip dikatakan layak digunakan untuk mengidentifikasi suatu senyawa dapat dilihat dari kinerja tes strip. Kinerja tes strip dapat ditinjau dari kemampuannya untuk membedakan jenis senyawa yang satu dengan yang lainnya melalui reaksi yang dihasilkan antara tes strip dengan senyawa tertentu baik satu komponen atau lebih. Selain itu dapat ditinjau dari reproduibilitas, life time, *recovery* sampel, dan limit deteksi baik secara kuantitatif maupun kualitatif.

Pengujian kinerja tes strip dalam penelitian ini khusus pada limit deteksi secara kualitatif dan daya beda dalam mengidentifikasi senyawa satu dengan lainnya. Sedangkan kinerja lainnya yang meliputi reproduibilitas, life time, dan *recovery* sampel telah dilakukan pada penelitian sebelumnya sehingga tidak perlu dilakukan.

Uji limit deteksi dilakukan untuk mengetahui konsentrasi terkecil sampel yang meliputi parasetamol, aspirin dan asam mefenamat yang masih dapat di deteksi keberadaannya oleh tes strip. Uji ini mengacu pada teknik yang dikembangkan O'Neall yakni pengukuran dilakukan untuk sampel dengan konsentrasi besar sampai dengan konsentrasi terkecil dimana tes strip sudah tidak menunjukkan perubahan warna yang di amati oleh indra mata.

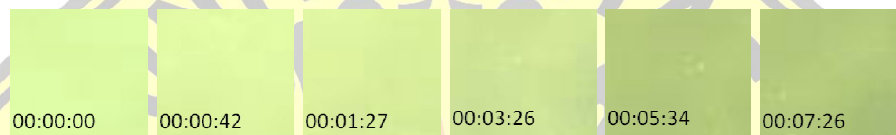
#### 4.3.1 Kinerja *Prototype Tes Strip* terhadap Parasetamol

Tes strip memberikan respon yang berbeda terhadap sampel parasetamol. Masing-masing tes strip diuji kemampuannya untuk merespon sampel parasetamol pada range konsentrasi 0,125 – 25 mg/mL. Tiga tes strip memberikan respon yang baik pada sampel parasetamol. Kecuali untuk tes strip keempat tidak memberikan perubahan warna. Pada tes strip pertama (strip mandelin) memberi respon mulai konsentrasi 5 mg/mL. Perubahan warna tidak terlihat lagi pada konsentrasi 3 mg/mL. Kinerja tes strip mandelin yang berupa reaksi perubahan warna tes strip mandelin setelah ditetesi larutan standar parasetamol dapat diamati secara kasat mata yang dapat dilihat pada gambar 4.7.



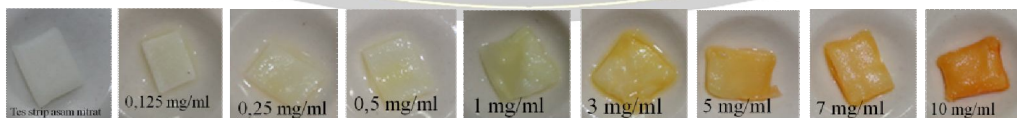
Gambar 4.7. Kinerja tes strip mandelin terhadap parasetamol

Waktu respon tes strip juga diamati menggunakan mikroskop. Data menunjukkan bahwa perubahan warna tes strip terjadi dan berubah secara gradual, diawali dengan warna kehijauan selanjutnya berubah menjadi hijau kecoklatan setelah 3 menit sehingga respon tes strip mandelin terhadap parasetamol dapat dikatakan cepat. Hasil disederhanakan pada gambar 4.8.



Gambar 4.8. Waktu respon tes strip mandelin dengan parasetamol

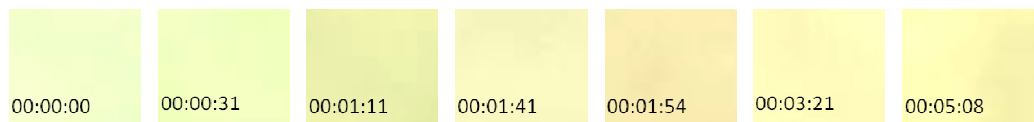
Pengujian larutan standar parasetamol juga dilakukan pada tes strip asam nitrat untuk mengetahui kinerja tes strip tersebut terhadap parasetamol. Pengujian tersebut dilakukan dengan meneteskan larutan standar parasetamol dengan range konsentrasi 0,125 – 10 mg/mL. Hasil menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,125 mg/mL masih terjadi perubahan warna walaupun warna yang dihasilkan kurang tajam. Berdasarkan pendekatan tersebut, limit deteksi dapat ditentukan secara kualitatif yakni 0,125 mg/mL. Kinerja tes strip asam nitrat terhadap parasetamol dapat dilihat pada gambar 4.9 sebagai berikut.



Gambar 4.9 Kinerja tes strip asam nitrat terhadap parasetamol

Waktu respon tes strip juga diamati menggunakan mikroskop. Data menunjukkan bahwa perubahan warna tes strip terjadi dan berubah secara gradual,

diawali dengan warna kekuningan selanjutnya berubah menjadi oranye pada 71 detik dan semakin pekat setelah 101 detik. Dengan demikian, waktu respon tes strip asam nitrat terhadap parasetamol tergolong cepat. Hasil disederhanakan pada gambar 4.10.



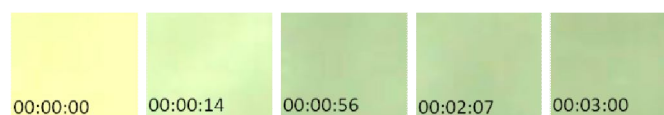
Gambar 4.10. Waktu respon tes strip asam nitrat dengan parasetamol

Parasetamol juga bereaksi dengan tes strip *ferric chloride hexahydrate* menghasilkan warna abu-abu. Sehingga pengujian limit deteksi juga dilakukan terhadap tes strip *ferric chloride hexahydrate*. Pengujian tersebut dilakukan dengan meneteskan larutan standar parasetamol dengan range konsentrasi 0,125 – 10 mg/mL pada permukaan tes strip. Hasil menunjukkan bahwa tes strip mulai mengalami perubahan warna mulai konsentrasi 1 mg/mL. Berdasarkan pendekatan tersebut limit deteksi dapat ditentukan secara kualitatif yakni 1 mg/mL. Kinerja tes strip *ferric chloride hexahydrate* dapat dilihat pada gambar 4.11.



Gambar 4.11 Kinerja tes strip *ferric chloride hexahydrate* terhadap parasetamol

Waktu respon tes strip juga diamati menggunakan mikroskop. Data menunjukkan bahwa perubahan warna tes strip terjadi dan berubah secara gradual, diawali dengan warna kekuningan selanjutnya berubah menjadi keabuan setelah 56 detik, sehingga waktu respon tes strip tergolong cepat. Hasil disederhanakan pada gambar 4.12


















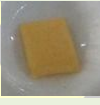
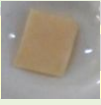

















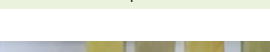
Gambar 4.12 Waktu respon tes strip *ferric chloride hexahydrate* dengan parasetamol












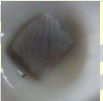





Berdasarkan uraian di atas, maka dapat disimpulkan bahwa waktu yang diperlukan ketiga tes strip untuk merespon keberadaan parasetamol tergolong cepat.

Selanjutnya pengujian juga dilakukan pada *prototype test strip*. Pengujian tersebut dilakukan dengan meneteskan larutan standar pada *prototype test strip* dengan range konsentrasi 0,125 – 25 mg/mL. Tes strip memiliki respon yang berbeda pada setiap konsentrasi parasetamol yang diteteskan. Hasil reaksi ditunjukkan pada tabel 4.8.

Tabel 4.8 Hasil reaksi tes strip dengan parasetamol

Konsentrasi (mg/mL)	Reagen				<i>Prototype</i>
	Metil Merah	FeCl <sub>3</sub>	Asam Nitrat	Mandelin	
0					
Keterangan	-	-	-	-	-
0,125					
Keterangan	-	-	+	-	+
0,25					
Keterangan	-	-	+	-	+
0,5					
Keterangan	-	-	+	-	+
1					
Keterangan	-	+	+	-	+
3					
Keterangan	-	+	+	+	+
5					
Keterangan	-	+	+	+	+

Konsentrasi (mg/mL)	Reagen				<i>Prototype</i>
	Metil Merah	FeCl <sub>3</sub>	Asam Nitrat	Mandelin	
7					
Keterangan	-	+	+	+	+
10					
Keterangan	-	+	+	+	+
25					
Keterangan	-	+	+	+	+

Berdasarkan tabel 4.8 diketahui bahwa *prototype test strip* menunjukkan perubahan warna pada tiga series strip yakni pada series pertama, series kedua, dan series ketiga. Perubahan warna pada ketiga series strip tersebut terjadi pada larutan standart mulai konsentrasi 3 mg/mL. Jika konsentrasi diturunkan menjadi 1 mg/ml perubahan warna hanya terjadi pada dua tes strip yakni series strip ke dua (tes strip asam nitrat) dan series strip ketiga (*ferric chloride hexahydrate*). Penurunan konsentrasi dibawah 1 mg/mL menyebabkan perubahan warna hanya terjadi pada series kedua (strip asam nitrat) saja. Data juga menunjukkan bahwa penurunan konsentrasi larutan standart hingga 0,125 mg/mL menyebabkan keempat tes strip tidak mampu merespon analit. Berdasarkan penjelasan tersebut dapat dikatakan bahwa limit deteksi *prototype tes strip* untuk parasetamol sebesar 3 mg/mL. Berdasarkan penjelasan tersebut dapat dikatakan bahwa limit deteksi tes strip untuk parasetamol cukup baik pada kisaran 0,125 – 5 mg/mL.

Data juga menunjukkan bahwa respon tes strip yang berupa intensitas warna berbanding lurus dengan konsentrasi sampel. Semakin besar konsentrasi sampel, warna yang dihasilkan semakin jelas. Berbeda dengan konsentrasi kecil, dimana intensitas warna kurang jelas.

#### 4.3.2 Kinerja Tes Strip yang di Tetesi Aspirin

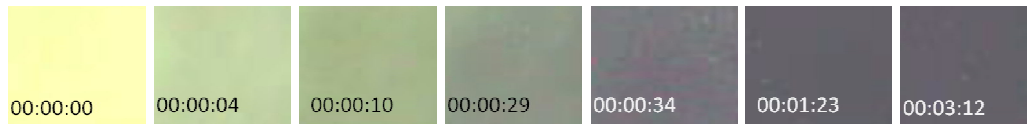
Seperti halnya pengujian tes strip terhadap sampel parasetamol, pengujian tes strip terhadap sampel aspirin juga di lakukan dengan meneteskan aspirin yang telah dilarutkan menggunakan pelarut aquades. Aspirin menunjukkan adanya perubahan warna pada dua tes strip yakni tes strip ketiga (*tes strip ferric chloride hexahydrate*) dan keempat (tes strip metil merah).

Pengujian pada tes strip *ferric chloride hexahydrate* dilakukan dengan meneteskan larutan standar aspirin pada range konsentrasi 0,125 – 10 mg/mL. Reaksi antara aspirin dengan reagen yang terimmobilisasi di dalam membran menghasilkan warna ungu gelap (*deep purple*). Hasil menunjukkan bahwa reaksi tersebut mulai terlihat tajam pada konsentrasi 0,5 mg/mL. Namun pada konsentrasi 0,125 mg/mL tes strip ferric chloride masih mampu merespon keberadaan aspirin walaupun perubahan warna kurang tampak jelas. Berdasarkan pendekatan tersebut, dapat ditentukan bahwa secara kualitatif limit deteksi untuk aspirin yakni sebesar 0,125 mg/mL. Kinerja tes strip *ferric chloride hexahydrate* dapat dilihat pada gambar 4.13.



Gambar 4.13 Kinerja tes strip *ferric chloride hexahydrate* terhadap aspirin

Waktu respon tes strip juga diamati menggunakan mikroskop. Data menunjukkan bahwa perubahan warna tes strip terjadi dan berubah secara gradual, diawali dengan warna kuning selanjutnya berubah menjadi keunguan setelah 10 detik. Warna keunguan ini semakin jelas dan selanjutnya berubah menjadi ungu pekat setelah 34 detik kemudian, sehingga waktu respon tes strip terhadap aspirin tergolong cepat. Hasil disederhanakan pada gambar 4.14.



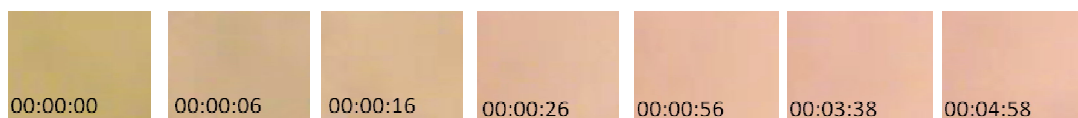
Gambar 4.14 Waktu respon tes strip *ferric chloride hexahydrate* dengan aspirin

Pengujian aspirin juga dilakukan pada tes strip metil merah dengan meneteskan larutan standar aspirin pada permukaan tes strip metil merah pada rang konsentrasi 0,125 – 10 mg/mL. Warna yang dihasilkan dari proses reaksi keduanya yakni merah muda. Hasil menunjukkan bahwa reaksi tersebut mulai terlihat pada konsentrasi 1 mg/mL. Perubahan warna sudah tidak terlihat lagi pada konsentrasi 0,5 mg/mL. Berdasarkan pendekatan tersebut, dapat ditentukan bahwa secara kualitatif limit deteksi untuk aspirin yakni sebesar 1 mg/mL. Kinerja tes strip metil merah dapat dilihat pada gambar 4.15.



Gambar 4.15 Kinerja tes strip metil merah terhadap aspirin

Waktu respon tes strip juga diamati menggunakan mikroskop. Data menunjukkan bahwa perubahan warna tes strip terjadi dan berubah secara gradual, diawali dengan warna kuning selanjutnya berubah menjadi merah muda setelah 26 detik warna merah muda yang dihasilkan semakin jelas. Dengan demikian, waktu respon tes strip metil merah terhadap aspirin dapat dikatakan cepat. Hasil disederhanakan pada gambar 4.16.




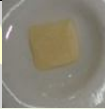














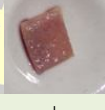









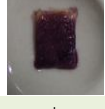



Gambar 4.16 Waktu respon tes strip metil merah terhadap sampel aspirin


















Berdasarkan hasil pengujian waktu respon kedua tes strip terhadap aspirin, dapat disimpulkan bahwa kedua tes strip baik tes strip ferri klorida maupun tes strip metil merah dapat dikatakan memiliki waktu respon yang cepat terhadap larutan standar aspirin.

Pengujian kinerja tes strip selanjutnya dilanjutkan pada *prototype test strip*. Pengujian tersebut dilakukan pada range konsentrasi 0,125 – 10 mg/mL. Hasil reaksi dari berbagai variasi konsentrasi aspirin dengan masing-masing series strip pada *prototype* menunjukkan kinerja *prototype*. Hasil reaksi antara sampel aspirin dengan *prototype test strip* dapat dilihat pada tabel 4.9.

Tabel 4.9 Hasil reaksi antara tes strip dengan sampel aspirin

Konsentrasi (mg/ml)	Reagen				Prototype
	Metil Merah	FeCl <sub>3</sub>	Asam Nitrat	Mandelin	
0					
<b>Keterangan</b>	-	-	-	-	-
0,125					
<b>Keterangan</b>	-	+	-	-	+
0,25					
<b>Keterangan</b>	-	+	-	-	+
0,5					
<b>Keterangan</b>	-	+	-	-	+
1					
<b>Keterangan</b>	+	+	-	-	+
3					
<b>Keterangan</b>	+	+	-	-	+

Konsentrasi (mg/mL)	Reagen				<i>Prototype</i>
	Metil Merah	FeCl <sub>3</sub>	Asam Nitrat	Mandelin	
5					
<b>Keterangan</b>	+	+	-	-	+
7					
<b>Keterangan</b>	+	+	-	-	+
10					
<b>Keterangan</b>	+	+	-	-	+

Tabel 4.9 menunjukkan bahwa tes strip mampu mendeteksi sampel aspirin pada beberapa tingkatan konsentrasi tertentu. *Prototype test strip* mulai menunjukkan adanya perubahan pada dua series strip yakni series strip ketiga dan keempat pada konsentrasi larutan standart 1 mg/mL. Penurunan konsentrasi larutan standart menjadi 0,5 mg/mL menyebabkan series keempat (strip metil merah) tidak menunjukkan adanya reaksi perubahan warna. Sehingga keberadaan aspirin hanya dapat diamati melalui perubahan warna series ketiga yang merupakan strip *ferric chloride hexahydrate*. Data juga menunjukkan bahwa intensitas warna yang dihasilkan semakin pekat dengan bertambahnya nilai konsentrasi sampel.

#### 4.3.3 Kinerja Tes Strip yang di Tetesi Asam Mefenamat

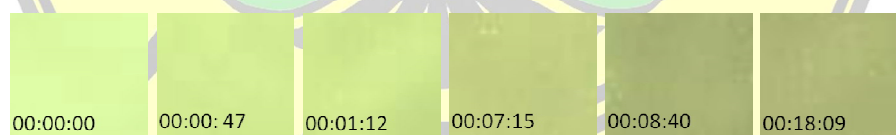
Berbeda dengan sampel parasetamol dan aspirin, sampel asam mefenamat hanya dapat di respon oleh tes strip ketika pelarut yang digunakan adalah kloroform. Sehingga pengujian kinerja tes strip terhadap sampel asam mefenamat menggunakan pelarut kloroform. Seperti halnya pengujian tes strip terhadap sampel parasetamol dan aspirin, pengujian tes strip di lakukan dengan meneteskan sampel pada masing – masing tes strip.

Sampel asam mefenamat yang digunakan untuk menguji kinerja tes strip mandelin memiliki beberapa variasi konsentrasi mulai 0,125 mg/mL hingga 10 mg/mL. Hasil menunjukkan tes strip mulai mengalami perubahan warna yang tajam mulai konsentrasi 0,5 mg/mL. Namun pada konsentrasi 0,125 mg/mL tes strip masih mengalami perubahan warna walaupun perubahan warna yang dihasilkan kurang tampak. Berdasarkan penjabaran tersebut dapat dikatakan bahwa limit deteksi untuk asam mefenamat sebesar 0,125 mg/mL. Kinerja tes strip mandelin terhadap asam mefenamat dapat dilihat pada gambar 4.17.



Gambar 4.17 Kinerja tes strip mandelin terhadap asam mefenamat

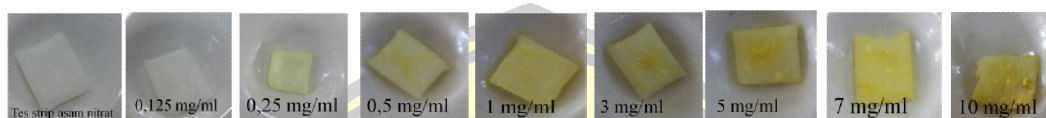
Waktu respon tes strip juga diamati menggunakan mikroskop. Data menunjukkan bahwa perubahan warna tes strip terjadi dan berubah secara gradual, diawali dengan warna kuning kehijauan selanjutnya berubah menjadi hijau kecoklatan setelah 435 detik, sehingga waktu respon tes strip dapat dikatakan sedang. Hasil disederhanakan pada gambar 4.18.



Gambar 4.18. Waktu respon tes strip mandelin dengan asam mefenamat

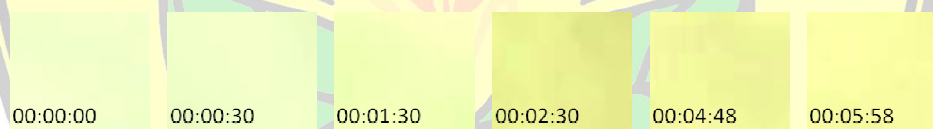
Pengujian kinerja juga dilakukan pada tes strip asam nitrat menggunakan pelarut kloroform. Pengujian tersebut dilakukan dengan meneteskan larutan standar asam mefenamat dengan range konsentrasi mulai 0,125 – 10 mg/mL pada permukaan tes strip. Hasil menunjukkan perubahan warna mulai terlihat ketika larutan standart yang digunakan memiliki konsentrasi 0,25 mg/mL. Perubahan warna sudah tidak

tampak ketika larutan asam mefenamat diturunkan konsentrasinya menjadi 0,125 mg/mL. Berdasarkan pendekatan tersebut dapat diketahui bahwa konsentrasi terkecil asam mefenamat yang dapat direspon oleh tes strip asam nitrat yakni sebesar 0,25 mg/mL. Kinerja tes strip asam nitrat terhadap untuk mendeteksi keberadaan asam mefenamat dapat dilihat pada gambar 4.19 sebagai berikut.



Gambar 4.19 Kinerja tes strip asam nitrat terhadap asam mefenamat

Waktu respon tes strip juga diamati menggunakan mikroskop. Data menunjukkan bahwa perubahan warna tes strip terjadi dan berubah secara gradual, diawali dengan warna putih selanjutnya berubah menjadi kuning setelah 90 detik, sehingga waktu respon tes strip dapat dikatakan cepat. Hasil disederhanakan pada gambar 4.20.







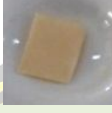





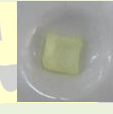








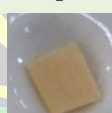







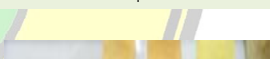

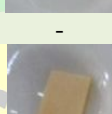





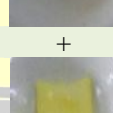









Gambar 4.20. Waktu respon tes strip asam nitrat terhadap asam mefenamat

Larutan standart juga diuji langsung pada *prototype test strip* dengan meneteskan larutan standart di permukaan *prototype test strip*. Perubahan warna hanya terjadi pada dua strip yakni strip pertama dan kedua. Hasil menunjukkan perubahan warna terjadi pada series strip pertama yakni strip mandelin dari kuning kehijauan menjadi hijau tua dan berakhir menjadi warna coklat keabuan (*grayish olive*). Pada strip kedua yakni series strip asam nitrat terjadi perubahan warna dari putih menjadi kuning. Hasil reaksi antara asam mefenamat pada *prototype test strip* dapat dilihat pada tabel 4.10.



Tabel 4.10 Hasil reaksi antara tes strip dengan sampel asam mefenamat














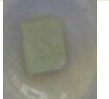






Konsentrasi (mg/ml)	Reagen				<i>Prototype</i>
	Metil Merah	FeCl <sub>3</sub>	Asam Nitrat	Mandelin	
0					
<b>Keterangan</b>	-	-	-	-	-
0,125					
<b>Keterangan</b>	-	-	-	+	+
0,25					
<b>Keterangan</b>	-	-	+	+	+
0,5					
<b>Keterangan</b>	-	-	+	+	+
1					
<b>Keterangan</b>	-	-	+	+	+
3					
<b>Keterangan</b>	-	-	+	+	+
5					
<b>Keterangan</b>	-	-	+	+	+
7					
<b>Keterangan</b>	-	-	+	+	+
10					
<b>Keterangan</b>	-	-	+	+	+















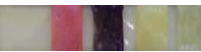

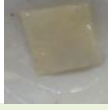




























*Prototype* mulai menunjukkan adanya perubahan warna pada kedua series mulai konsentrasi 0,25 mg/mL. Penurunan konsentrasi menjadi 0,125 mg/mL menyebabkan perubahan warna hanya terjadi pada satu series strip yakni series strip pertama (strip mandelin). Sehingga pada konsentrasi tersebut, keberadaan asam mefenamat hanya dapat dibuktikan melalui perubahan warna satu series strip.

#### 4.4 Interferensi Analit

Pengujian interferensi dilakukan untuk mengetahui kemampuan tes strip bereaksi dengan beberapa komponen sampel dalam suatu larutan. Penelitian ini dilakukan dengan meneteskan campuran dua larutan dengan perbandingan 25:75, 50:50, dan 75:25 (% v/v) pada masing-masing series strip metil merah, *ferric chloride hexahydrate*, asam nitrat, dan mandelin. Warna yang dihasilkan diamati menggunakan kamera digital sony 14,1 mp dan didukung menggunakan *spectrophoometer reflectansi*. Hasil reaksi warna dapat dilihat pada tabel 4.11

Tabel 4.11 Hasil reaksi campuran dua senyawa dengan tes strip

Sampel	Reagen				<i>Prototype</i>
	Metil merah	FeCl <sub>3</sub>	Asam nitrat	Mandelin	
Sebelum					
keterangan	-	-	-	-	-
Parasetamol					
keterangan	-	+	+	+	+
Aspirin					
keterangan	+	+	-	-	+
Asam mefenamat					
keterangan	-	-	+	+	+

Sampel	Reagen				Prototype
	Metil merah	FeCl <sub>3</sub>	Asam nitrat	Mandelin	
aspirin-parasetamol (1:3)					
Keterangan	+	+	+	+	+
aspirin-parasetamol (1:1)					
Keterangan	+	+	+	+	+
aspirin-parasetamol (3:1)					
Keterangan	+	+	+	+	+
Parasetamol-asam mefenamat (3:1)					
Keterangan	-	+	+	+	+
Parasetamol-asam mefenamat (1:1)					
Keterangan	-	+	+	+	+
Parasetamol-asam mefenamat (1:3)					
Keterangan	-	+	+	+	+
Asam mefenamat-aspirin (3:1)					
Keterangan	+	+	+	+	+
Asam mefenamat-aspirin (1:1)					
Keterangan	+	+	+	+	+
Asam mefenamat-aspirin (1:3)					
Keterangan	+	+	+	+	+

Berdasarkan tabel 4.11 diketahui bahwa campuran komponen dalam suatu larutan tidak mempengaruhi hasil identifikasi bahan analgesik parasetamol, aspirin,

dan asam mefenamat. Hal tersebut dapat dibuktikan dari reaksi warna yang terbentuk pada *prototype tes strip*. Warna yang dihasilkan dari reaksi campuran senyawa dengan tes strip sesuai reaksi antara reagen spesifik terimmobilisasi dengan masing-masing senyawa. *Prototype* yang ditetesi dengan campuran parasetamol dengan aspirin mengalami perubahan warna pada keempat series strip. Pada series strip pertama terjadi perubahan warna dari kuning kehijauan menjadi hijau kecoklatan (*moderate olive*). Series kedua terjadi perubahan warna dari putih menjadi oranye, series ketiga terjadi perubahan warna dari kuning menjadi ungu, dan series keempat terjadi perubahan warna dari kuning jingga menjadi merah muda. Model *prototype* dapat digambarkan pada gambar 4.21.



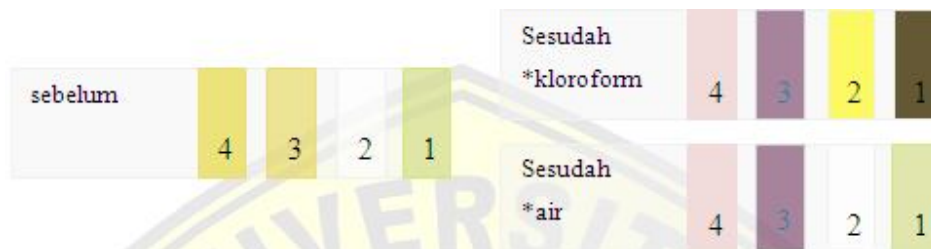
Gambar 4.21 Hasil reaksi antara *prototype* dengan parasetamol-aspirin

Intensitas warna yang dihasilkan sesuai dengan konsentrasi komponen dalam larutan. Jika konsentrasi parasetamol ditingkatkan, maka intensitas warna pada series pertama dan kedua semakin meningkat. Sebaliknya jika konsentrasi aspirin ditingkatkan, maka intensitas warna pada series ketiga dan keempat meningkat sedangkan intensitas pada series pertama dan kedua menurun.

Warna yang dihasilkan berbeda sesuai dengan komposisi pada larutan yang ditetaskan pada *prototype tes strip*. *Prototype tes strip* yang ditetesi dengan campuran aspirin dan asam mefenamat juga akan mengalami perubahan warna pada keempat series strip jika menggunakan pelarut kloroform karena kloroform menjadi media pendukung terjadinya reaksi warna antara reagen yang terimmobilisasi di dalam membran dengan keduanya. Series pertama akan berubah dari kuning kehijauan menjadi hijau coklat keabuan (*grayish olive*), series kedua terjadi perubahan warna dari putih menjadi kuning, series strip ketiga terjadi perubahan warna dari kuning menjadi ungu, dan series keempat terjadi perubahan warna dari kuning jingga



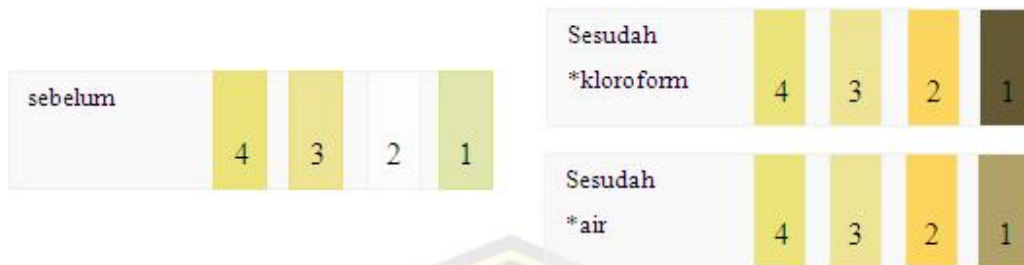
menjadi merah muda. Namun, jika yang digunakan adalah pelarut aquades, maka perubahan warna hanya terjadi pada series strip ketiga dan keempat. Hasil digambarkan seperti pada gambar 4.22.



Gambar 4.22 Hasil reaksi antara *prototype* dengan aspirin-asam mefenamat

Sedangkan *prototype* yang ditetesi campuran parasetamol dan asam mefenamat terjadi perubahan warna pada tes strip pertama, kedua, dan ketiga. Perubahan warna pada tes strip pertama sesuai dengan warna series yang ditetesi parasetamol yakni dari kuning kehijauan menjadi hijau kecoklatan (*moderate olive*) jika pelarut yang digunakan air dan menjadi hijau coklat seperti halnya reaksi dengan asam mefenamat jika pelarut yang digunakan adalah pelarut kloroform. Sedangkan tes strip kedua terjadi perubahan warna dari putih menjadi oranye mengikuti warna parasetamol. Hal tersebut dikarenakan warna hasil reaksi dengan parasetamol lebih pekat dibandingkan reaksi dengan asam mefenamat. Series strip ketiga akan berubah warna menjadi keabu-abuan jika pelarut yang digunakan adalah pelarut air. Sedangkan jika pelarut yang digunakan kloroform, maka tidak akan terjadi perubahan warna.

Hal tersebut dikarenakan pelarut kloroform tidak dapat memediasi terjadinya reaksi antara parasetamol dengan reagen yang terimmobilisasi dalam membran karena faktor volatilitas kloroform serta kelarutan sampel dalam kloroform yang mempengaruhi keberhasilan suatu reaksi kimia. Hasil dapat digambarkan menggunakan chart warna seperti pada gambar 4.23.

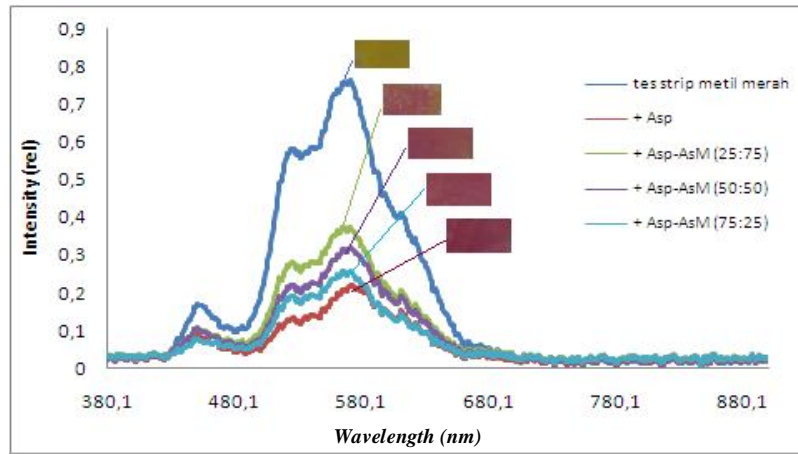


Gambar 4.23 Hasil reaksi antara *prototype* dengan parastamol-asam mefenamat

Namun demikian, tidak mengganggu hasil identifikasi ketiga senyawa walaupun dalam larutan terdapat dua senyawa. Hal tersebut dikarenakan masing - masing series strip reaktif terhadap senyawa tertentu secara spesifik. Selain itu, warna hasil reaksi pada satu series strip mendukung series strip lainnya dalam mengidentifikasi senyawa sehingga ketiga senyawa tersebut dapat dibedakan secara spesifik. Konsentrasi suatu senyawa dalam campuran dua senyawa hanya mempengaruhi intensitas warna hasil reaksi. Hal tersebut didukung melalui pengukuran tes strip menggunakan *spectrophotometer* reflektansi. Penjelasan hasil pengukuran dijelaskan secara detil berdasarkan tiap jenis tes strip yang digunakan di bawah ini.

#### 4.4.1 Tes strip metil merah

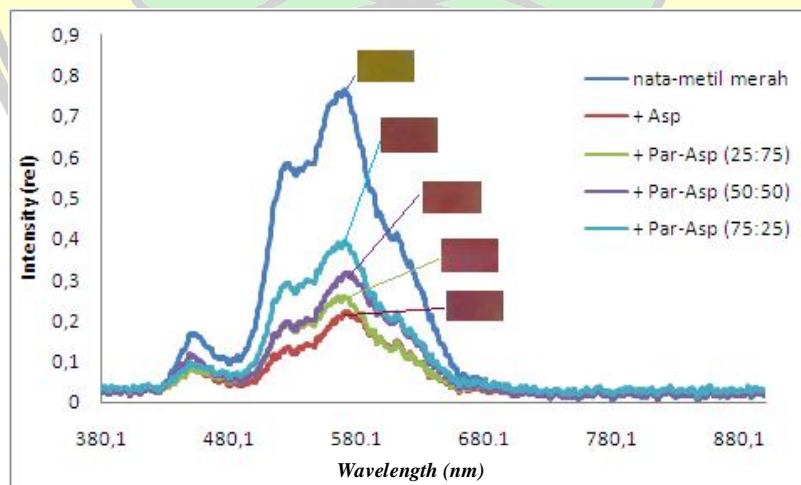
Berdasarkan data sebelumnya, diketahui bahwa tes strip ini hanya mampu merespon/mengidentifikasi keberadaan aspirin dengan menghasilkan produk berwarna merah muda. Sehingga pengujian terhadap dua senyawa hanya dilakukan untuk membuktikan tinggi rendahnya intensitas warna merah muda yang dihasilkan pada tes strip. Hubungan antara tinggi rendahnya intensitas warna yang dihasilkan pada tes strip dengan intensitas cahaya yang direfleksikan dapat dilihat pada gambar 4.24.



Gambar 4.24 Profil sinyal tes strip metil merah setelah penambahan campuran aspirin/asam mefenamat.

Berdasarkan profil sinyal yang didapatkan diketahui bahwa nilai intensitas menurun dengan naiknya intensitas warna pada tes strip. Hal tersebut dikarenakan pada saat warna membran semakin gelap maka cahaya yang diserap oleh membran semakin banyak sehingga cahaya yang direfleksikan semakin sedikit.

Hal serupa dapat dilihat pada profil sinyal yang didapatkan dari pengukuran tes strip yang ditetesi dengan campuran senyawa aspirin-parasetamol pada gambar 4.25.

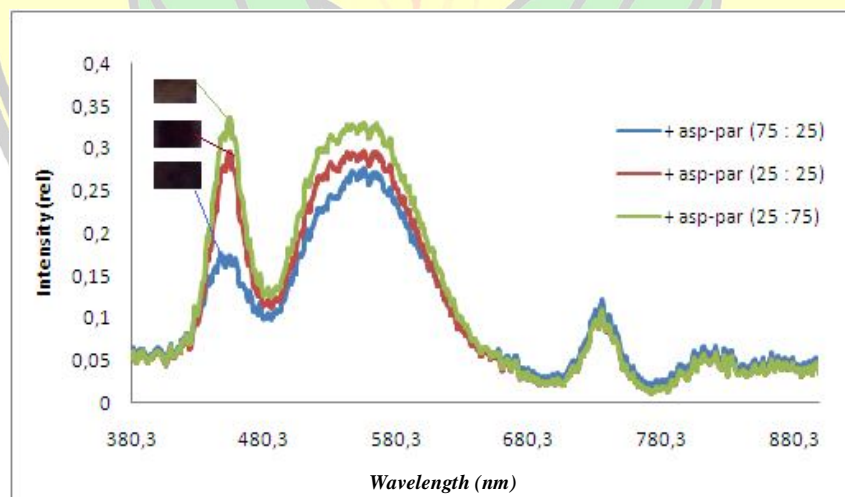


Gambar 4.25 Profil sinyal tes strip metil merah setelah penambahan campuran aspirin/parasetamol.

Tidak dilakukan pengukuran campuran parasetamol dan asam mefenamat dikarenakan reagen yang terimmobilisasi di dalam membran tidak bereaksi dengan kedua senyawa.

#### 4.4.2 Tes strip *ferric chloride hexahydrate*

Berdasarkan data sebelumnya, diketahui bahwa tes strip ini, mampu merespon/mengidentifikasi keberadaan aspirin dengan menghasilkan produk senyawa kompleks berwarna ungu. Sedangkan dengan parasetamol akan menghasilkan kompleks berwarna abu – abu. Sehingga dalam penelitian ini dilakukan pengujian interferensi pada tes strip. Hasil reaksi menunjukkan bahwa warna yang dihasilkan mengikuti warna kompleks senyawa yang lebih pekat. Pada campuran senyawa aspirin dan parasetamol tampak bahwa semakin besar konsentrasi aspirin dalam campuran maka warna yang dihasilkan semakin pekat. Hal tersebut dibuktikan dengan profil sinyal yang didapatkan dari pengukuran tes strip dengan *spectrophotometer reflektansi* pada gambar 4.26.

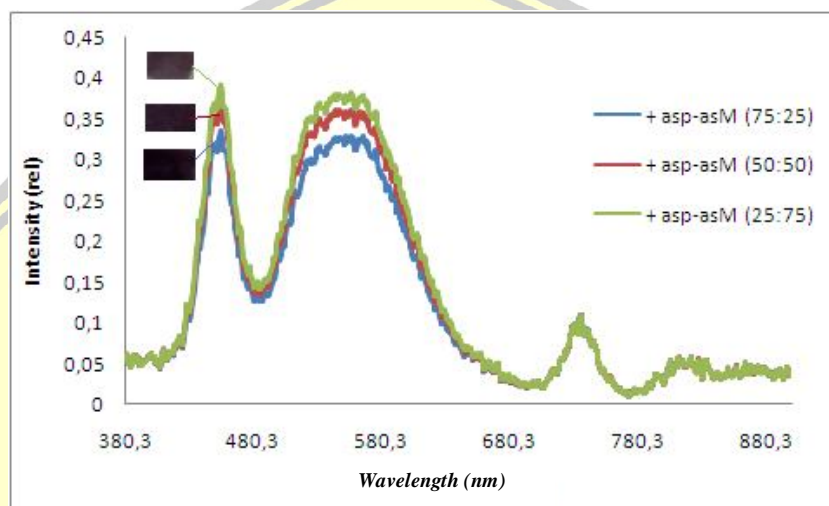


Gambar 4.26 Profil sinyal tes strip *ferric chloride hexahydrate* setelah penambahan campuran aspirin/parasetamol.



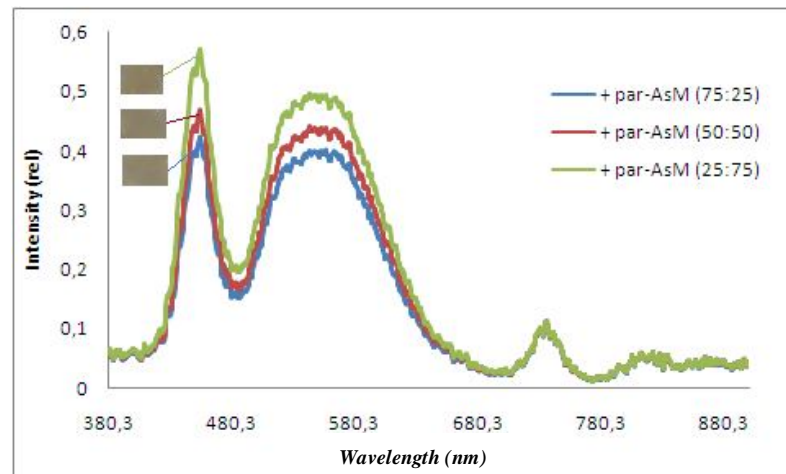
Profil sinyal yang didapatkan menunjukkan bahwa nilai intensitas menurun dengan naiknya intensitas warna pada tes strip. Hal tersebut dikarenakan pada saat warna membran semakin gelap maka cahaya yang diserap oleh membran semakin banyak sehingga cahaya yang direfleksikan semakin sedikit.

Hal serupa dapat dilihat pada profil sinyal yang didapatkan dari pengukuran tes strip yang ditetesi dengan campuran senyawa aspirin-asam mefenamat pada gambar 4.27.



Gambar 4.27 Profil sinyal tes strip *ferric chloride hexahydrate* setelah penambahan campuran aspirin/asam mefenamat.

Sedangkan pengujian campuran parasetamol dan asam mefenamat akan menghasilkan kompleks berwarna abu – abu. Hal tersebut dikarenakan reagen yang terimmobilisasi pada membran hanya bereaksi dengan parasetamol. Dengan meningkatnya konsentrasi parasetamol dalam sistem campuran maka intensitas yang dihasilkan semakin rendah dan sebaliknya. Profil sinyal dapat dilihat pada gambar 4.28

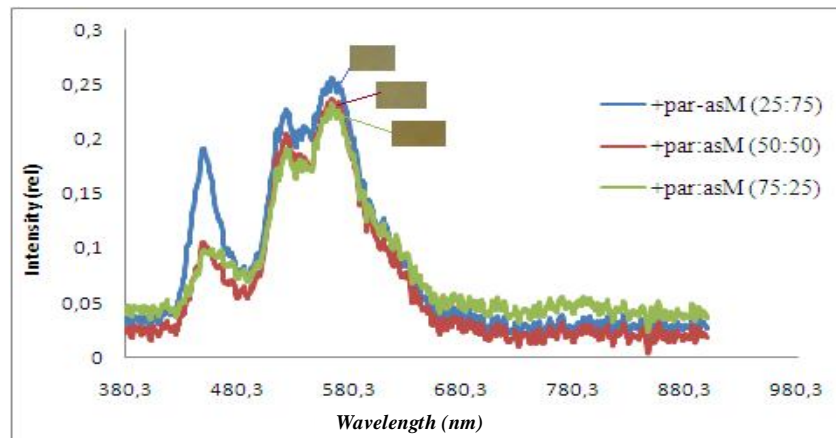


Gambar 4.28 Profil sinyal tes strip *ferric chloride hexahydrate* setelah penambahan parasetamol/asam mefenamat.

#### 4.4.3 Tes strip asam nitrat

Tes strip nitrat mampu merespon/mengidentifikasi keberadaan senyawa parasetamol dan asam mefenamat. Berdasarkan data sebelumnya diketahui bahwa reagen asam nitrat yang terimmobilisasi dalam membran nata de coco (*bacterial selulose*) akan menghasilkan warna oranye setelah direaksikan dengan parasetamol dan kuning setelah direaksikan dengan asam mefenamat. Dalam penelitian ini dilakukan pengujian interferensi pada tes strip.

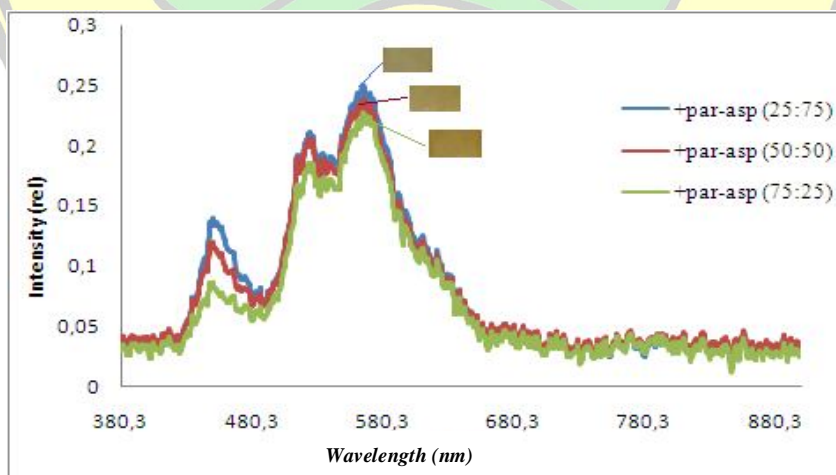
Berdasarkan data sebelumnya tes strip asam nitrat mampu bereaksi baik dengan parasetamol maupun asam mefenamat dengan menggunakan pelarut kloroform. Namun jika pelarut yang digunakan aquades, maka tes strip asam nitrat negatif terhadap asam mefenamat. Sehingga pengujian interferensi dilakukan menggunakan pelarut kloroform untuk campuran keduanya. Hasil reaksi yang didapatkan didukung menggunakan spectrophotometer reflektansi untuk menunjukkan intensitas warna yang didapatkan dari kedua campuran senyawa tersebut. Profil sinyal yang didapatkan dapat dilihat pada gambar 4.29.



Gambar 4.29 Profil sinyal tes strip asam nitrat setelah penambahan campuran asam mefenamat-parasetamol.

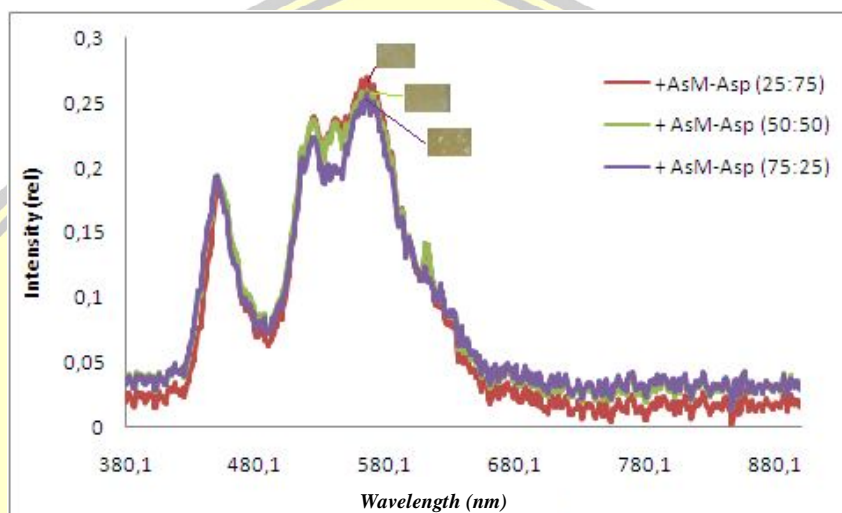
Berdasarkan profil sinyal yang didapatkan diketahui bahwa nilai intensitas menurun dengan naiknya intensitas warna pada tes strip. Hal tersebut dikarenakan pada saat warna membran semakin gelap maka cahaya yang diserap oleh membran semakin banyak sehingga cahaya yang direfleksikan semakin sedikit.

Hal serupa dapat dilihat pada profil sinyal yang didapatkan dari pengukuran tes strip yang ditetesi dengan campuran senyawa parasetamol-aspirin pada gambar 4.30.



Gambar 4.30. Profil sinyal tes strip asam nitrat setelah penambahan campuran parasetamol/aspirin

Sedangkan pengujian campuran asam mefenamat dan aspirin akan menghasilkan senyawa berwarna kuning. Hal tersebut dikarenakan reagen yang terimmobilisasi pada membran hanya bereaksi dengan asam mefenamat. Dengan meningkatnya konsentrasi asam mefenamat dalam sistem campuran maka intensitas yang dihasilkan semakin rendah dan sebaliknya. Profil sinyal dapat dilihat pada gambar 4.31



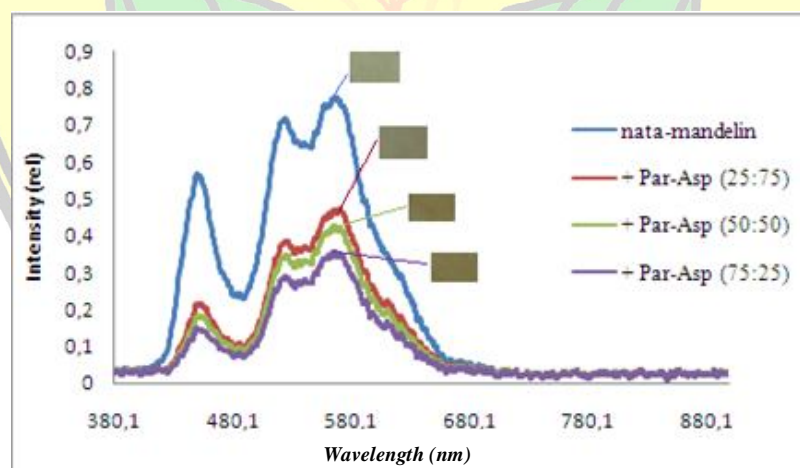
Gambar 4.31 Profil sinyal tes strip asam nitrat setelah penambahan campuran aspirin/asam mefenamat.

#### 4.4.4 Tes strip Mandelin

Tes strip mandelin mampu merespon/mengidentifikasi keberadaan senyawa parasetamol dan asam mefenamat. Berdasarkan data sebelumnya diketahui bahwa reagen mandelin yang terimmobilisasi dalam membran nata de coco (*bacterial selulose*) akan menghasilkan warna hijau kecoklatan setelah direaksikan dengan parasetamol dan hijau tua dan beberapa saat berubah menjadi coklat yang stabil setelah direaksikan dengan asam mefenamat. Dalam penelitian ini dilakukan pengujian interferensi pada tes strip.



Berdasarkan data sebelumnya tes strip mandelin mampu bereaksi parasetamol jika dilakukan dengan pelarut air dan asam mefenamat menggunakan pelarut kloroform. Namun jika pelarut yang digunakan aquades, maka tes strip mandelin negatif terhadap asam mefenamat. Sebaliknya, jika yang digunakan adalah pelarut kloroform, maka tes strip mandelin negatif terhadap parasetamol. Dalam penelitian ini dilakukan pengujian terhadap campuran parasetamol/aspirin menggunakan pelarut aquades. Hasil reaksi menunjukkan bahwa campuran parasetamol/aspirin jika ditetaskan pada tes strip mandelin menghasilkan warna hijau kecoklatan mengikuti warna hasil reaksi parasetamol dengan reagen mandelin yang terimmobilisasi di dalam membran. Setiap perbandingan komposisi keduanya akan menghasilkan intensitas warna yang berbeda pada tes strip. Hal tersebut didukung dengan menggunakan profil sinyal spectrophotometer reflektansi yang didapatkan dari pengukuran tes strip yang telah ditetesi campuran kedua senyawa dengan komposisi tertentu. Profil sinyal yang didapatkan dari pengukuran tes strip dapat dilihat pada gambar 4.32.

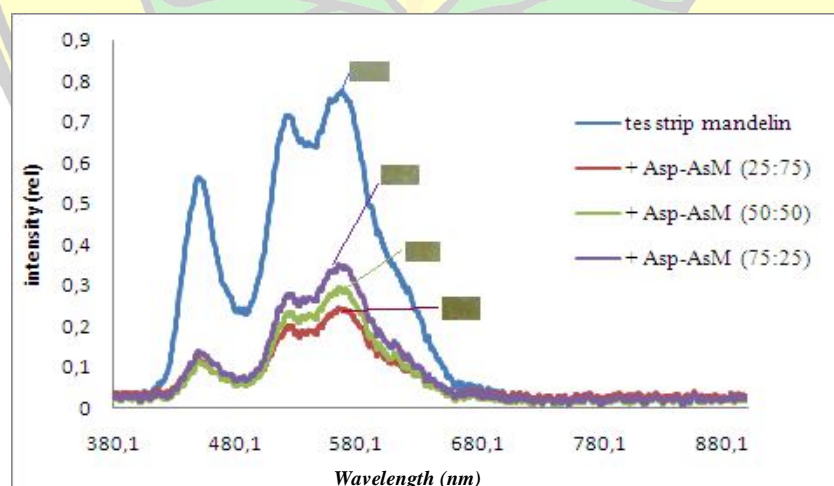


Gambar 4.32 Profil sinyal tes strip mandelin setelah penambahan campuran parasetamol/aspirin.

Berdasarkan gambar 4.32. diketahui bahwa intensitas tertinggi sampai intensitas terendah ditunjukkan pada tes strip yang ditetesi campuran

parasetamol/aspirin dengan perbandingan konsentrasi 25:75 (% v/v), parasetamol/aspirin 50:50 (% v/v), parasetamol/aspirin 75:25 (% v/v). Hal tersebut dikarenakan pada komposisi 25:75 (% v/v) memiliki konsentrasi parasetamol yang paling rendah sehingga intensitas cahaya yang diserap lebih kecil daripada yang direfleksikan.

Hal serupa juga didapatkan dari pengujian campuran aspirin/asam mefenamat menggunakan pelarut kloroform. Hasil reaksi pada tes strip mandelin menunjukkan bahwa reaksi yang didapatkan mengikuti hasil reaksi antara asam mefenamat dengan reagen mandelin yang telah terimmobilisasi di dalam membran. Sehingga dapat diketahui bahwa keberadaan aspirin tidak mengganggu reaksi warna antara asam mefenamat dengan aspirin. Intensitas warna yang dihasilkan sesuai dengan konsentrasi asam mefenamat yang terdapat pada campuran kedua senyawa dalam suatu larutan. Semakin besar konsentrasi asam mefenamat dalam suatu campuran maka akan semakin kuat intensitas warna yang dihasilkan pada suatu tes strip. Hal tersebut juga dibuktikan melalui pengukuran tes strip menggunakan spectrophotometer reflektansi. Profil sinyal yang didapatkan dari pengukuran tersebut dapat dilihat pada gambar 4.33.

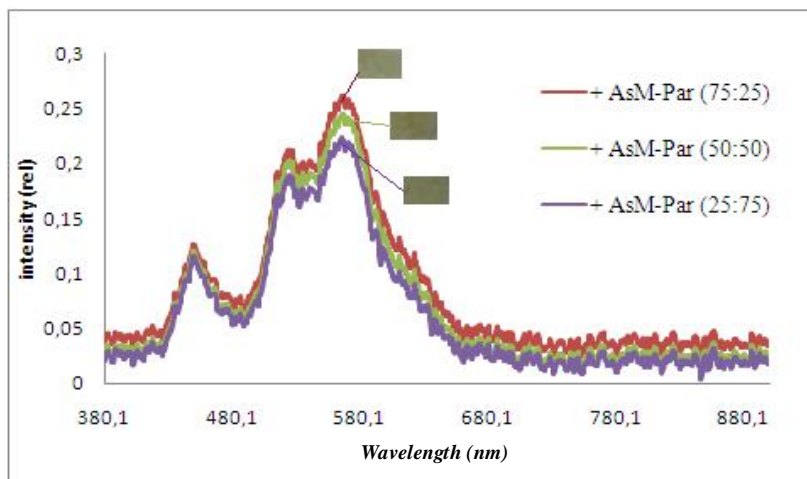


Gambar 4.33 Profil sinyal tes strip mandelin setelah penambahan campuran aspirin/asam mefenamat.

Profil sinyal pada gambar 4.33 menunjukkan bahwa intensitas tertinggi merupakan sinyal campuran aspirin/asam mefenamat dengan perbandingan 75:25 (%v/v). Hal tersebut membuktikan bahwa semakin terang warna pada membran/tes strip maka semakin tinggi intensitas sinyal. Sehingga dapat dikatakan pula konsentrasi sampel berbanding terbalik dengan intensitas sinyal.

Hal serupa juga terjadi pada komposisi larutan parasetamol/asam mefenamat dengan komposisi 25:75, 50:50, dan 75:25 (% v/v). Penggunaan pelarut mempengaruhi hasil dari reaksi warna. Hal tersebut sesuai dengan optimasi pelarut yang telah dilakukan sebelumnya. Asam mefenamat hanya bereaksi dengan reagen mandelin yang terimmobilisasi di dalam membran jika pelarut yang digunakan kloroform. Dan sebaliknya parasetamol hanya bereaksi dengan reagen mandelin pada tes strip jika pelarut yang digunakan aquades. Sehingga pengujian untuk membuktikan besarnya konsentrasi senyawa pada campuran dua larutan berpengaruh pada intensitas warna yang dihasilkan cukup menggunakan salah satu pelarut. Dalam penelitian ini dipilih pelarut aquades.

Hasil menunjukkan bahwa warna yang dihasilkan dari proses reaksi mengikuti warna hasil reaksi parasetamol. Hal tersebut menunjukkan bahwa keberadaan asam mefenamat dalam suatu larutan parasetamol tidak mempengaruhi warna hasil reaksi. Dengan kata lain, warna hasil reaksi antara tes strip mandelin dengan campuran parasetamol/asam mefenamat hanya dipengaruhi besarnya konsentrasi parasetamol dalam larutan. Hal tersebut dibuktikan pula dari profil sinyal reflektansi yang didapatkan dari hasil pengukuran tes strip. Profil sinyal dapat dilihat pada gambar 4.34.



Gambar 4.34 Profil sinyal tes strip mandelin setelah penambahan campuran parasetamol/asam mefenamat











#### 4.4 Uji Real Sampel

Uji coba penggunaan *prototype test strip* untuk sampel parasetamol, aspirin dan asam mefenamat dilakukan dengan menggunakan sampel jamu komersial dengan jenis untuk menyembuhkan penyakit pegal linu, rematik, flu tulang, dan asam urat. Sampel jamu dipilih dan diberi kode J1 (pegal linu, asam urat, dan rematik) dan J2 (flu tulang). Jamu yang dipilih dalam penelitian ini memiliki batas kadaluarsa tahun 2015. Pemilihan batas kadaluarsa tersebut dilakukan untuk mengurangi adanya kerusakan analit yang terkandung di dalam sampel.

Sampel dipersiapkan dengan melarutkan jamu ke dalam air dan dipisahkan dari endapannya melalui proses filtrasi. Uji real sampel tersebut dilakukan dengan meneteskan filtrat jamu pada masing-masing tes strip. Hasil menunjukkan bahwa sampel yang dipersiapkan melalui proses filtrasi tidak dapat diidentifikasi secara langsung. Hal tersebut dikarenakan zat warna (kurkumin, klorofil, xantofil) yang terkandung di dalam jamu mengganggu reaksi perubahan warna tes strip, sehingga warna yang dihasilkan sama seperti warna yang terdapat pada jamu. Hasil ditunjukkan pada tabel 4.11 sebagai berikut.



Tabel 4.12 Hasil reaksi real sampel menggunakan filtrat jamu

Kondisi	Tes Strip				<i>Prototype</i>
	Metil Merah	FeCl <sub>3</sub>	Asam Nitrat	Mandelin	
Sebelum					
keterangan	-	-	-	-	-
Setelah					
keterangan	-	-	-	-	-

Pengujian tersebut menunjukkan bahwa untuk mengidentifikasi sampel jamu diperlukan adanya teknik ekstraksi guna mengekstrak analit dan menghilangkan/mengurangi gangguan interferensi zat warna yang terkandung di dalam jamu pada saat proses identifikasi. Dalam penelitian ini dilakukan teknik ekstraksi menggunakan filtrat jamu dengan pelarut kloroform. Teknik ekstraksi dilakukan dalam kondisi larutan sedikit basa dengan alasan analit yang diinginkan merupakan senyawa turunan alkaloid yang larut dalam basa. Untuk menjadikan larutan menjadi sedikit basa, maka dalam penelitian ini filtrat ditambahkan larutan natrium karbonat. Proses ekstraksi dilanjutkan dengan mengevaporasi larutan ekstrak hingga menjadi serbuk. Proses identifikasi dilanjutkan dengan melarutkan serbuk dengan air sehingga ekstrak dapat diidentifikasi menggunakan tes strip.

Ada dua jenis obat tradisional yang diuji dalam penelitian ini. Proses identifikasi dilakukan dengan meneteskan larutan sampel pada masing – masing tes strip. Jenis bahan analgesik yang terkandung dalam jamu dapat diketahui dari perubahan warna masing – masing series strip. Perubahan warna yang di dapatkan dicocokkan dengan reaksi warna pada standar. Sehingga secara kualitatif jenis bahan analgesik yang terkandung dalam jamu dapat ditentukan. Hasil reaksi antara sampel dengan tes strip dapat dilihat pada tabel 4.6

Tabel 4.13 Hasil reaksi real sampel menggunakan ekstrak jamu

Sampel	Ulangan	Reagen				Prototype
		Metil Merah	FeCl <sub>3</sub>	Asam Nitrat	Mandelin	
Sebelum						
keterangan		-	-	-	-	-
J1	1					
keterangan		-	+	+	+	+
	2					
keterangan		-	+	+	+	+
	3					
keterangan		-	+	+	+	+
J2	1					
keterangan		-	+	+	+	+
	2					
keterangan		-	+	+	+	+
	3					
keterangan		-	+	+	+	+

Berdasarkan tabel 4.6 diketahui bahwa sampel jamu yang di uji mengandung bahan analgesik. Hal tersebut terbukti dengan adanya reaksi warna yang terjadi antara ekstrak jamu dengan tes strip. Pada jamu J1 terjadi perubahan warna pada tes strip *ferric chloride hexahydrate*, asam nitrat dan mandelin. Pada tes strip *ferric chloride hexahydrate* terjadi perubahan dari kuning menjadi keabu-abuan, pada tes strip asam nitrat terjadi perubahan warna dari putih menjadi oranye, dan terjadi perubahan dari kuning kehijauan menjadi hijau kecoklatan pada tes strip mandelin. Perubahan warna yang terjadi pada sampel serupa dengan perubahan warna pengujian larutan standar

parasetamol. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa pada sampel J1 mengandung bahan analgesik jenis parasetamol.

Sedangkan pada J2 terjadi perubahan warna pada 2 jenis tes strip yakni tes strip asam nitrat dan mandelin. Tes strip asam nitrat berubah warna dari putih menjadi kekuningan sedangkan tes strip mandelin berubah warna dari kuning kehijauan menjadi coklat. Perubahan warna yang terjadi pada masing – masing series strip sesuai dengan reaksi warna antara tes strip dengan larutan standar asam mefenamat. Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat asam mefenamat dalam jamu J2.



## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut:

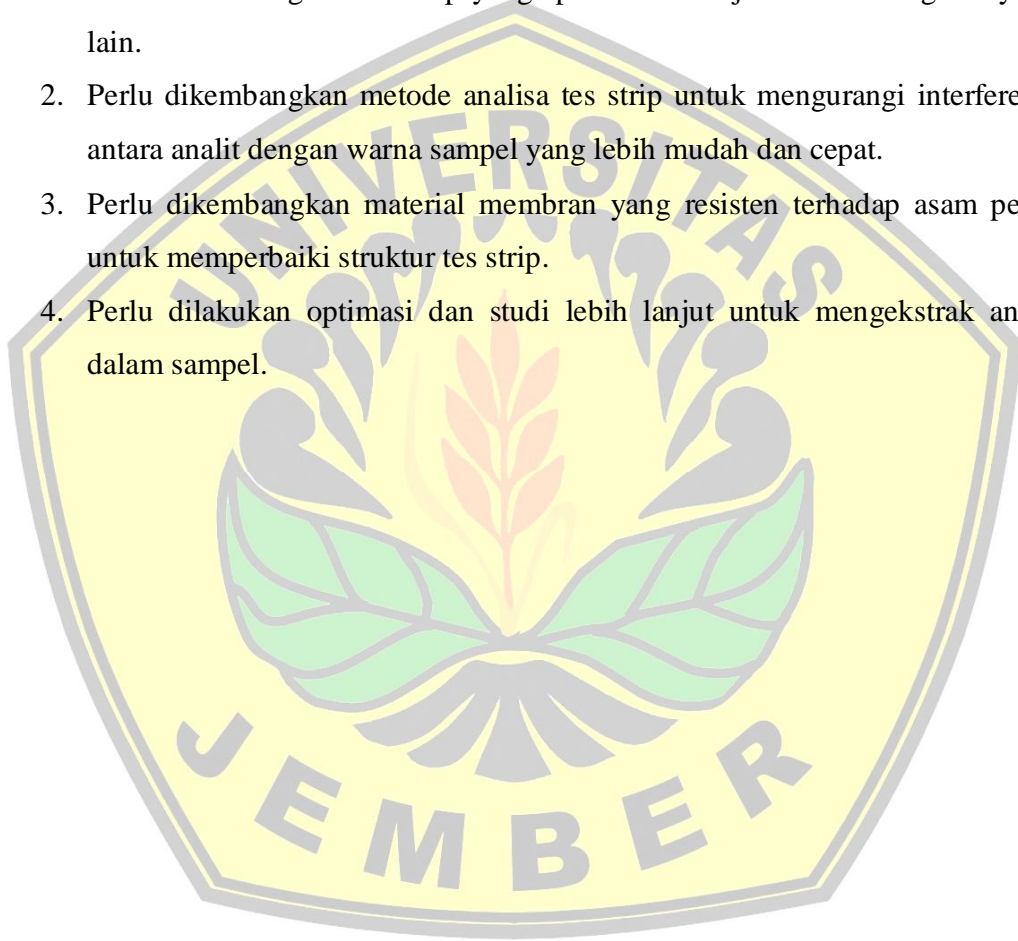
1. Pelarut yang layak digunakan untuk melarutkan sampel yaitu aquades untuk sampel parasetamol dan aspirin, sedangkan asam mefenamat dengan pelarut kloroform.
2. Kinerja prototipe tes strip yang dipelajari meliputi limit deteksi tes strip secara kualitatif, daya beda, dan interferensi analit. Limit deteksi *prototype tes strip* untuk parasetamol cukup baik pada kisaran antara 0,125 – 5 mg/mL; 0,125 – 1 mg/mL untuk aspirin; dan 0,125 – 0,25 mg/mL untuk asam mefenamat. *Prototype tes strip* mampu membedakan keberadaan parasetamol, aspirin, dan asam mefenamat secara spesifik dengan mengamati perubahan pada tiap *series strip*. Keberadaan parasetamol memberikan perubahan warna pada strip pertama (*moderat olive*), kedua (oranye), dan ketiga (keabuan). Keberadaan aspirin memberikan perubahan warna pada strip ketiga (ungu gelap) dan keempat (merah muda). Keberadaan asam mefenamat memberikan perubahan warna pada strip pertama (coklat keabuan) dan kedua (kuning). Keberadaan dua analit tidak mempengaruhi hasil identifikasi. *Prototype tes strip* mampu membedakan keberadaan parasetamol, aspirin, dan asam mefenamat secara spesifik. Waktu respon *prototype tes strip* untuk parasetamol dan aspirin tergolong cepat, sedangkan untuk asam mefenamat tergolong sedang.
3. Uji real sampel dilakukan melalui proses filtrasi dan ekstraksi. *Prototype tes strip* tidak mampu mengidentifikasi keberadaan analit dalam sampel jamu yang dipreparasi secara filtrasi. *Prototype tes strip* mampu mengidentifikasi



keberadaan analit dalam sampel jamu yang dipreparasi secara ekstraksi. Sampel jamu dengan label J1 mengandung parasetamol sedangkan J2 mengandung asam mefenamat.

### 3.2 Saran

1. Perlu dikembangkan tes strip yang spesifik untuk jenis obat analgesik yang lain.
2. Perlu dikembangkan metode analisa tes strip untuk mengurangi interferensi antara analit dengan warna sampel yang lebih mudah dan cepat.
3. Perlu dikembangkan material membran yang resisten terhadap asam pekat untuk memperbaiki struktur tes strip.
4. Perlu dilakukan optimasi dan studi lebih lanjut untuk mengekstrak analit dalam sampel.



**DAFTAR PUSTAKA**

- Alloway, B.J.1995. *Heavy Metal in Soil*. 2<sup>ed</sup>Edition. New york: Blackie Academic dan Profesional.
- Aminah, Siti. 2011. *Test Strip Untuk Uji Kualitatif Asam Mefenamat, Aspirin, dan Parasetamol dengan Menggunakan Reagen Spesifik yang Diimmobilisasi pada Membran Nata de coco-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*. Tidak Dipublikasikan. Skripsi. Jember: Program Sarjana Universitas Jember.
- Atienza, Von Ervy, Alcantara, Mark Jun dan Sir Kevin Sison. 2010. *Synthesis of Organic Compounds [Aspirin]*. USA.
- Anudeepa, Sivasakthi, Kumar, Ramya, Rajendran, & Venkatnarayanan. 2011. "Development and Validation of RP-HPLC and UV-Spectrophotometric method for Mefenamic acid and Drotaverin hydrochloride in combined dosage form". *Der Pharmacia Lettre* 3 (2), 2011: 250-256.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2004. *Keputusan Kepala BPOM RI Nomor HK.00.05.4.2411 Tentang Ketentuan Pokok Pengelompokan dan Penandaan Obat Bahan Alam Indonesia*.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2009. *Public Warning/ Peringatan Nomor KH.00.01.1.43.2397 Tentang Obat Tradisional dan Suplemen Makanan Mengandung Bahan Kimia Obat. 2397*. [online]. [http://www.pom.go.id/public/peringatan publik/pdf/PW\\_OT\\_SUP\\_MAK\\_BK O\\_JADI.pdf](http://www.pom.go.id/public/peringatan publik/pdf/PW_OT_SUP_MAK_BK_O_JADI.pdf) [2 September 2011].
- Chaplin, M. 2004. *Methods Of Immobilisation*. <http://www.lsbu.ac.uk/bilogy/enztech/immethod.html> [ 28 Februari 2012].
- Clark, Jim. 2003. *Vanadium*. <http://www.chemguide.co.uk>. [ 28 Februari 2012].
- Cowan, F. F. 1978. *Pharmacology for the Dental Hygienist for Student and Practitioners*. Philadelphia, USA: Lea & Febiger.

- Day, R.A & Underwood, A.L. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif, Edisi 6*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- DepKes RI. 2010. *Peraturan Menteri kesehatan Republik Indonesia Nomor 003/MENKES/PER/I/2010 Tentang Sainifikasi jamu dalam Penelitian Berbasis Pelayanan Kesehatan*.
- Dwiangga, Septianita. 2010. Validasi Metode Penetapan Kadar Asam AsetilSalisilat dalam Sediaan Obat Memanfaatkan Sinar Reflektan Terukur dari Bercak yang Dihasilkan. Skripsi. [online]. <http://etd.eprints.ums.ac.id/8183/1/K100060001.pdf> [2 Oktober 2011].
- Ebel. 1992. *Obat Sintetik*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Eggins, B.R. 1996. *Biosensor: an introduction*. John Wiley and Sons, Ltd.
- Eggins, B. R. 1997. *Biosensor: an Introduction*. New York: John Wiley and Sons.
- Fegade, Bhole, Shaikh, Chaudhari, & Patil. 2009. "Development and Validation of Reverse High Performance Liquid Chromatographic Method for Simultaneous Estimation of Paracetamol and Piroxicam in Tablet". *Int. J. PharmTech. Res*, 1 (2): 184-190.
- Hall, E. A. H. 1990. "Biosensor". Dalam Kellner, R., J. M. Mermet, M. Otto, H. M. Wildmer (Ed). *Analytical Chemistry*. 1st edition. Weinheim: Wiley-VCH.
- Hinz, Dom, Shen, & Brune. 2005. *Anti-Inflammatory – Antirheumatic Drugs*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Katzung, B.G. dan Trevor, A.Z. 1994. *Buku Bantu Farmakologi Alih Bahasa Staf Dosen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya*. Jakarta: EGC.
- 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.

- Kunin, R. 1991. *Ion Exchanger*. New York: Walter de Gruyter Berlin.
- Kuswandi, B. 2001. *Sensor Kimia Serat Optik: Konsep, Desain dan Instrumentasi*. Jember: Universitas Jember.
- Lee, P. W. 2002. *Handbook of Residue Analytical Methods for Agro Chemical*. USA: John Willey & Sons.
- Mario, Borges, Caballero, Fonseca, Capriles, Hulett, González, & Aveledo. 2010. *Hypersensitivity Reactions to Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: An Update. J. Pharm, Vol 3: 10-18*. [online]. <http://www.mdpi.com/1424-8247/3/1/10/pdf> [20 September 2011].
- Murtaza, Khan, Shabbir, Mahmood, Asad, Farzana, Malik, & Husain. 2010. *Development of a UV-Spectrophotometric Method for the Simultaneous Determination of Aspirin and Paracetamol in Tablets, Sci. Res. Essay, 6 (2): 417-421*.
- Nabila. 2011. *Pengembangan Test Strip untuk Uji Kualitatif Pethidin Menggunakan Membran Nata de Coco*. Tidak Dipublikasikan. Skripsi. Jember: Fakultas Matematika dan ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
- Ouassou, Jabir Ali. 2010. *Synthesis on an Ether Alkyltion of Paracetamol to Phenacetin*.
- Price dan Wilson, L.M. 1984. *Patofisiologi Edisi 2*. Terjemahan oleh Adji Darma. Jakarta: EGC.
- Roy, Saha, Sultana, & Kenyon. 1997. "Rapid Screening of Marketed Paracetamol tablets: Use of Thin-Layer Chromatography and a Semiquantitative Spot Test". *Bulletin of The WHO, 75 (1): 19-22*.
- Sampurno. 2007. *Obat Herbal dalam Prespektif dan Medik dan Bisnis*. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.



- Suwandari, N. W. 2004. *Studi Fabrikasi Biosensor Optik Berbasis Immobilisasi Asetilkolinesterase untuk Pendeteksian Pestisida Golongan Organofosfat dan Karbamat*. Tidak Dipublikasikan. Skripsi. Jember: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
- Teixeira, Júnior, Marcolino, Filho, Fatibello, Moraes, & Nunes. 2009. "Determination of Analgesics (Dipyron and Acetaminophen) in Pharmaceutical Preparations by Cyclic Voltammetry at Copper (II) Hexacyanoferrate (III) modified Carbon Paste Electrode". *Current Analytical Chemistry*, 5 (4): 303-310.
- Weinert, Patrícia L., Pezza, Leonardo., Pezza, Helena R. 2007. "A Simplified Reflectometric Method for the Rapid Determination of Dipyron in Pharmaceutical Formulations". *J. Braz. Chem. Soc*, 18 (4): 846-854.
- Wenten, I. G. 1999. *Teknologi Membran Industrial*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Wolfe, M. Michael., Lichtenstein, David. R., & Singh, Gurkirpal. 1999. "Gastrointestinal Toxicity of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs. The New England". *J. Med*, 340 (24): 1888-1899.

## LAMPIRAN

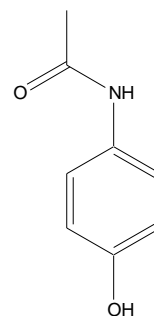
## Lampiran A. Perhitungan pH Parasetamol 5 mg/mL

$$pK_a = 9,75$$

$$\text{sehingga } K_a = 1,78 \cdot 10^{-10}$$

$$M_r \text{ Parasetamol} = 151$$

$$\begin{aligned} \text{mol} &= \frac{\text{massa}}{M_r} \\ &= \frac{5 \text{ gram}}{151 \text{ gram/mol}} \\ &= 0,033 \text{ mol} \end{aligned}$$



*N-(4-hydroxyphenyl)acetamide*

$$\begin{aligned} M_a &= \frac{\text{mol}}{V} \\ &= \frac{0,033 \text{ mol}}{1 \text{ L}} \\ &= 0,033 \text{ M} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} [H^+] &= \sqrt{K_a \cdot M_a} \\ &= \sqrt{1,78 \cdot 10^{-10} \times 0,033} \\ &= \sqrt{5,8 \cdot 10^{-12}} \\ &= 2,4 \cdot 10^{-6} \end{aligned}$$

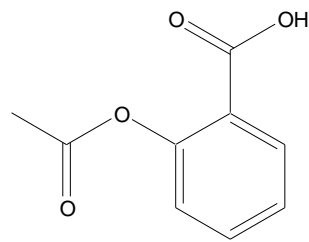
$$\begin{aligned} \text{pH} &= -\log [H^+] \\ &= -\log (2,4 \cdot 10^{-6}) \\ &= 6 - \log 2,4 \\ &= 6 - 0,3 \\ &= 5,7 \end{aligned}$$

### Lampiran B. Perhitungan pH Aspirin 5 mg/mL

$$pK_a \text{ aspirin} = 3,45$$

$$\text{sehingga } K_a = 3,55 \cdot 10^{-4}$$

$$M_r \text{ Aspirin} = 180$$



2-(Acetyloxy)benzoic acid

$$\begin{aligned} \text{mol} &= \frac{\text{massa}}{M_r} \\ &= \frac{5 \text{ gram}}{180 \text{ gram/mol}} \\ &= 0,028 \text{ mol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} M_a &= \frac{\text{mol}}{V} \\ &= \frac{0,028 \text{ mol}}{1 \text{ L}} \\ &= 0,028 \text{ M} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} [H^+] &= \sqrt{K_a \cdot M_a} \\ &= \sqrt{3,55 \cdot 10^{-4} \times 0,028} \\ &= \sqrt{9,94 \cdot 10^{-6}} \\ &= 3,15 \cdot 10^{-3} \end{aligned}$$

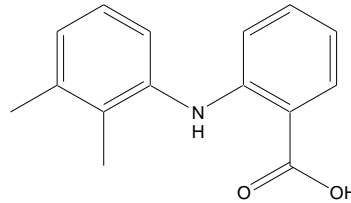
$$\begin{aligned} \text{pH} &= -\log [H^+] \\ &= -\log (3,15 \cdot 10^{-3}) \\ &= 3 - \log 3,15 \\ &= 4 - 0,49 \\ &= 2,51 \end{aligned}$$

**Lampiran C. Perhitungan pH Asam Mefenamat 5 mg/mL**

$$pK_a = 4,2$$

$$K_a = 6,31 \cdot 10^{-5}$$

$$Mr \text{ Asam Mefenamat} = 241$$



$$\begin{aligned} \text{mol} &= \frac{\text{massa}}{Mr} \\ &= \frac{5 \text{ gram}}{241 \text{ gram/mol}} \\ &= 0,021 \text{ mol} \end{aligned}$$

*2-[(2,3-dimethylphenyl)amino]benzoic acid*

$$\begin{aligned} Ma &= \frac{\text{mol}}{V} \\ &= \frac{0,021 \text{ mol}}{1 \text{ L}} \\ &= 0,021 \text{ M} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} [H^+] &= \sqrt{K_a \cdot Ma} \\ &= \sqrt{6,31 \cdot 10^{-5} \times 0,021} \\ &= \sqrt{1,33 \cdot 10^{-6}} \\ &= 1,15 \cdot 10^{-3} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{pH} &= -\log [H^+] \\ &= -\log (1,15 \cdot 10^{-3}) \\ &= 3 - \log 1,15 \\ &= 3 - 0,06 \\ &= 2,94 \end{aligned}$$