

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Penelitian yang dilangsungkan merupakan penelitian non eksperimental berupa deskriptif dimana digunakan sampel jamu serbuk pegal linu yang dilarutkan dengan pelarut metanol. Lalu dilakukan analisis kualitatif menggunakan reagen warna berupa asam sulfat pekat dan kromatografi lapis tipis (KLT), serta dilakukan penentuan kadar deksametason dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

#### **B. Lokasi dan Waktu**

##### **1. Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilangsungkan di Laboratorium Biofarmakologi Program Studi Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta.

##### **2. Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilangsungkan mulai bulan April 2023 hingga bulan Juni 2023.

#### **C. Sampel Penelitian**

Teknik sampling yang dilakukan berupa *purposive sampling*, dengan karakteristik sampel diantaranya yaitu:

- a. Kriteria Inklusi: jamu serbuk dengan label kemasan pegal linu, *range* harga Rp. 1000-Rp. 10.000, dan diperoleh dari pasar sekitar Kota Yogyakarta.
- b. Kriteria Eksklusi: jamu serbuk pegal linu dengan merek yang sama, jamu serbuk dengan label kemasan kombinasi, dan melewati masa *expired date*.

Sampel yang diambil pada penelitian yaitu 22 sampel jamu serbuk pegal linu yang tersebar di pasar dari 5 Kecamatan Kota Yogyakarta diantaranya Gondokusuman, Gondomanan, Umbulharjo, Jetis, dan Wirobrajan.

#### **D. Variabel Penelitian**

Variabel-variabel yang akan digunakan pada penelitian ini meliputi:

##### **1. Variabel Bebas**

Variabel bebas penelitian berupa beberapa merek sampel jamu pegal linu sediaan serbuk yang diperoleh dari pasar-pasar Kota Yogyakarta.

##### **2. Variabel Terikat**

Variabel terikat penelitian berupa parameter analisis kualitatif berupa hasil reaksi warna dan kromatografi lapis tipis (KLT) serta analisis kuantitatif yang dievaluasi berupa kadar deksametason.

##### **3. Variabel Terkendali**

Variabel terkontrol pada penelitian ini berupa pelarut metanol dan sediaan serbuk.

#### **E. Definisi Operasional Variabel**

1. Sampel jamu yang digunakan diperoleh dari pasar dengan 22 merek berbeda, dengan kriteria serbuk, adanya label kemasan pegal linu, serta harga sekitar Rp. 1.000 – Rp. 10.000.
2. Sampel yang diperoleh dilarutkan dalam metanol untuk uji kualitatif berupa reaksi warna dan KLT serta uji kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Vis.
3. Kadar deksametason dalam sampel ditunjukkan dengan parameter nilai absorbansi pada serapan (panjang gelombang) maksimum deksametason dalam satuan persen (%).

#### **F. Alat dan Bahan**

##### **1. Alat**

Alat yang dipergunakan dalam penelitian berupa seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis, set alat gelas, chamber, corong pisah, mikropipet, corong gelas, neraca analitik, kaca arloji dan batang pengaduk.

##### **2. Bahan-Bahan Penelitian**

Bahan yang dipergunakan pada penelitian berupa sampel jamu serbuk pegal linu dari berbagai merek yang didapatkan di pasar, baku pembanding deksametason (BPFI), etanol *pro analisis* (Merck), metanol

*pro analisis (Merck)*, aquadest, kloroform *pro analisis (Emsure)*, kertas saring, serta asam sulfat pekat ( $H_2SO_4$ ) *pro analisis (Mallinckrodt)*.

## G. Pelaksanaan Penelitian

### 1. Pengumpulan Sampel

Sampel berbagai merek jamu sediaan serbuk untuk pegal linu didapatkan dari pasar-pasar Kota Yogyakarta berdasarkan kriteria sampel.

### 2. Analisis Kualitatif

#### a. Reaksi warna *Salkowski*

Ditimbang kurang lebih 100 mg sampel jamu, pindahkan ke dalam gelas beaker. Tambahkan 5 mL metanol kemudian disaring ke dalam tabung reaksi. Hasil filtrat sampel tambahkan dengan 2 mL asam sulfat pekat lalu diamati pergantian warna yang terjadi. Analisis kualitatif steroid mengikuti reaksi *Salkowski*. Adanya steroid diperlihatkan dengan terbentuknya cincin warna merah (Fitriyani et al., 2011).

#### b. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

##### 1) Larutan baku pembanding

Ditimbang seksama 100 mg deksametason (BPFI), masukkan ke dalam labu ukur 100,0 mL. Lalu, tambahkan metanol hingga garis batas gelas ukur (Larutan 1) (Lovianasari et al., 2021)

##### 2) Larutan sampel ditambah baku pembanding (*spike*)

Ditimbang kurang lebih 100 mg sampel jamu dan 5 mg baku deksametason (BPFI). Tambahkan 5 mL metanol dihomogenkan lalu disaring. Hasil filtrat siap dianalisis (Larutan 2) (Lovianasari et al., 2021)

##### 3) Larutan uji sampel

Ditimbang kurang lebih 100 mg sampel jamu, masukkan ke dalam gelas beaker. Tambahkan 5 mL metanol kemudian disaring. Hasil filtrat dilakukan analisis (Larutan 3) (Lovianasari et al., 2021).

#### 4) Identifikasi KLT

Ditotolkan masing-masing larutan 1 (baku pembanding deksametason), larutan 2 (*spike*), dan larutan 3 (sampel) secara terpisah pada plat KLT yang telah diaktifkan dengan jarak penotolan masing-masing 1 cm. Setelah penotolan kering, masukkan plat ke dalam chamber yang telah jenuh dengan fase gerak untuk bermigrasi. Setelah fase gerak mencapai batas atas, plat diangkat dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Dilihat bercak noda pada plat dengan sinar UV 254 nm dan UV 366 nm.

Fase gerak: Kloroform : Etanol 96% (9:1)

Fase diam: Plat Silika Gel GF 254

Volume penotolan:  $\pm 5 \mu\text{L}$

Bercak: Lampu UV 254 dan 366 nm, terlihat bercak warna ungu.

(Lovianasari et al., 2021).

### 3. Analisis Kuantitatif

#### a. Kurva Baku Deksametason

##### 1) Pembuatan larutan induk

Deksametason ditimbang seksama 100 mg, lalu pindahkan ke dalam labu ukur 100,0 mL. Tambahkan metanol hingga tanda garis pada labu ukur 100,0 mL, kemudian dihomogenkan. Larutan ini mempunyai konsentrasi sebesar 1000 ppm. Kemudian dari larutan 1000 ppm dipipet sejumlah 1,0 mL, pindahkan ke dalam labu ukur 10,0 mL, encerkan menggunakan metanol hingga tanda garis pada labu ukur maka akan didapatkan larutan yang mempunyai konsentrasi sebesar 100 ppm (Lovianasari et al. 2021).

##### 2) Penetapan Panjang gelombang maksimum

Penetapan Panjang gelombang maksimum deksametason dilakukan dengan mengukur serapan larutan baku induk pembanding deksametason (BPFI) dengan konsentrasi 10 ppm menggunakan spektrofotometri UV-Vis, kemudian diamati nilai

serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum dalam *range* 200-400 nm (Ryansyah, 2022).

3) Pembuatan larutan baku seri konsentrasi deksametason

Larutan baku deksametason dengan konsentrasi 100 ppm dipipet sejumlah 0,3 mL; 0,4 mL; 0,5 mL; 0,6 mL; 0,7 mL; dan 0,8 mL, lalu pindahkan masing-masing ke labu ukur 5,0 mL, diencerkan menggunakan metanol hingga garis tanda batas maka akan didapatkan deksametason dengan konsentrasi masing-masing 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, 14 ppm, dan 16 ppm. Kemudian dibaca serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan sebelumnya. Masing-masing dari konsentrasi dan absorbansi yang didapatkan kemudian di plot sebagai kurva baku yang akan dipakai untuk menetapkan kadar dari deksametason pada sampel jamu yang dianalisis (Ryansyah, 2022).

b. Preparasi Sampel

Sampel yang telah melalui analisis kualitatif dengan hasil positif mengandung deksametason dianalisis kuantitatif dengan membuat larutan stok 20.000 ppm. Serbuk sampel jamu ditimbang seksama 100,0 mg, pindahkan ke dalam labu ukur 5,0 mL. Encerkan menggunakan metanol hingga garis tanda batas, aduk hingga terlarut sempurna lalu disaring. Hasil filtrat larutan tersebut selanjutnya diambil dengan pipet sejumlah 0,125 mL, tuangkan ke labu ukur 5,0 mL, encerkan menggunakan metanol hingga garis tanda batas pada labu ukur sehingga diperoleh larutan yang memiliki konsentrasi 500 ppm. Selanjutnya dibaca nilai serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Dilakukan 3x pengulangan yang dimulai dari penimbangan sampel (Lovianasari et al., 2021).

## H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

### 1. Perhitungan Kadar Dekسامetason

Data hasil penelitian dikaji dengan mengaitkan antara konsentrasi larutan sampel (x) dan nilai absorbansi sampel (y) kemudian akan dilanjutkan dengan menghitung regresi linier dengan persamaan  $y = bx + a$ . Selanjutnya hitung nilai penetapan kadar dengan rumus berikut:

$$Kadar = \frac{(C \times V \times F)}{m} \times 100\%$$

Dimana:

C = Konsentrasi

V = Volume larutan sampel

F = Faktor Pengenceran

m = massa penimbangan sampel (Lovianasari et al. 2021).

### 2. Perhitungan Nilai rata-rata ( $\bar{X}$ )

Rata-rata ( $\bar{X}$ ) ialah jumlah keseluruhan nilai data yang dibagi dengan keseluruhan banyaknya data menggunakan rumus berikut.

$$\bar{X} = \left( \sum x \right) / N$$

Dimana:

$\bar{X}$  = nilai rata-rata sebelum

x = nilai data dari  $X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_n$

N = jumlah kejadian atau jumlah frekuensi (Bardja, 2017).

### 3. Standar Deviasi (S)

Standar deviasi ialah akar pangkat dua dari variansi (Hesni, 2020).

### 4. Coefficient Variation (CV)

*Coefficient variation* atau koefisien variasi ialah perbandingan nilai diantara standar deviasi dan rerata nilai hitung dari perbedaan antara standar deviasi dan rata-rata nilai dari sebuah distribusi. Apabila nilai koefisien variasi semakin besar maka data yang didapatkan tidak merata (heterogen), namun apabila nilai koefisien variasi semakin kecil maka data yang didapatkan akan merata (homogen), nilai koefisien variasi dapat dicari menggunakan rumus berikut:

$$CV = \frac{SD}{\bar{X}}$$

Dimana:

CV = *Coefficient variation* (koefisien variasi)

SD = Standar deviasi

$\bar{X}$  = nilai hitung rata-rata (Yusniyanti dan Kurniati, 2017).

### 5. Interval Kepercayaan (*Limit of error*)

Interval kepercayaan yaitu salah satu parameter untuk mengukur/mengestimasi keakuratan rerata atau proporsi sebuah sampel yang mewakili populasi sesungguhnya (Hartland, 2020). Dihitung menggunakan rumus:

$$LE = t x \frac{SD}{\sqrt{N}}$$

Dimana:

LE = *limit of error*

t = nilai t tabel

SD = standar deviasi

N = banyak sampel

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMALYANI  
PEBUSTAKAAN  
YOGYAKARTA