

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian non eksperimental deskriptif. Penentuan kandungan bahan kimia obat (prednison) dari serbuk jamu pegal linu dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis dan Spektrofotometri UV-Vis.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi penelitian

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

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan April 2023 – Juli 2023.

C. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan berupa jamu serbuk yang berlabel pegal linu sebanyak dua puluh sampel diperoleh di pasar dari 5 kecamatan Kota Yogyakarta yaitu kecamatan Gondokusuman, Gondomanan, Jetis, Umbulharjo, dan Wirobrajan. Teknik sampling yang dilakukan berupa *purposive sampling*. Dengan kriteria inklusi meliputi kisaran harga jamu Rp. 1.000 – 10.000, sediaan serbuk, diperoleh dari Pasar Kota Yogyakarta. Kriteria eksklusi meliputi sampel jamu pegal linu yang sudah kadaluarsa, manfaat kombinasi dalam satu jamu, merek jamu yang sama.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas (*independent variable*)

Variabel bebas penelitian berupa jamu serbuk pegal linu yang akan diperoleh dari pasar kota Yogyakarta.

2. Variabel Terikat (*dependent variable*)

Variabel terikat penelitian berupa hasil analisis kandungan dan nilai kadar dari prednison dalam sediaan jamu pegal linu.

3. Variabel Terkendali

Variabel terkendali penelitian berupa dua puluh sampel jamu pegal linu sediaan serbuk, banyaknya pelarut etanol 96% yang akan digunakan.

E. Definisi Operasional

Sampel yang digunakan berupa jamu serbuk pegal linu sebanyak dua puluh jenis jamu yang diperoleh di pasar dari 5 kecamatan Kota Yogyakarta dengan masing-masing merek berbeda, serta karakteristik yang diambil adalah berlabel BPOM, tidak ada label BPOM, dijual dengan harga kisaran Rp. 1.000 – 10.000, dan bentuk jamu berupa serbuk.

Sampel jamu pegal linu yang di dapatkan dilarutkan dalam etanol 96%. Metode analisis yang dilakukan adalah kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis dengan fase gerak kloroform : etil asetat (1:9). Untuk analisis kuantitatif dilakukan dengan metode Spektrofotometri UV-Vis dan diperoleh nilai kadar prednison dinyatakan dalam satuan %.

F. Alat dan Bahan

1. Alat yang digunakan

Alat yang akan diperlukan pada penelitian berupa neraca analitik (*Ohaus SW version 10S*), oven (*Memmert*), alat-alat gelas, mikro pipet, *chamber*, lampu UV 254 nm dan 365 nm, seperangkat alat KLT dan Spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10S UV-Vis Spectrophotometer*).

2. Bahan yang digunakan

Bahan yang akan dipergunakan pada penelitian berupa jamu serbuk pegal linu yang diperoleh dari pasar kota Yogyakarta, standar prednison (BPFI), etanol 96% teknis, aquades, etanol *p.a* (*Emsure*), etil asetat *p.a* (*Emsure*), kloroform *p.a* (*Emsure*), kertas saring, dan silika gel GF₂₅₄.

G. Pelaksanaan Penelitian

1. Pembuatan larutan baku induk prednison

Ditimbang seksama 100 mg standar prednison kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 100,0 mL ditambahkan dengan larutan etanol p.a sampai tanda batas. Larutan tersebut memiliki konsentrasi 1000 ppm. Dari konsentrasi 1000 ppm tersebut dipipet 1,0 mL dimasukkan dalam labu ukur 10,0 mL ditambah etanol p.a sampai tanda batas dan didapatkan larutan dengan konsentrasi 100 ppm.

2. Analisis kualitatif dengan KLT

a. Penjenuhan Chamber

Dibuat campuran fase gerak antara kloroform : etil asetat (1:9) kemudian dimasukkan ke dalam bejana ditutup rapat dan ditunggu hingga jenuh (Fikayuniar dkk., 2020).

b. Preparasi sampel

Ditimbang kurang lebih masing-masing sampel serbuk jamu 100 mg kemudian dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak 5 mL lalu disaring dan ditampung ekstrak cair sampel jamu dalam tabung reaksi.

c. Identifikasi kromatografi lapis tipis

Larutan sampel jamu dan larutan induk prednison selanjutnya ditotolkan pada lempeng KLT ukuran 9 x 4 cm yang sudah diaktifkan dengan oven pada suhu 100°C selama 30 menit. Kemudian lempeng KLT dimasukkan ke dalam bejana yang sudah terjenuhi oleh fase gerak. Saat fase gerak berjalan sampai batas tanda pada lempeng KLT, kemudian diangkat dan dikeringkan. Setelah itu diamati nodanya dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 dan 365 nm. Dilihat perbandingan hasil noda antara sampel dan larutan induk setelah itu dihitung nilai Rf nya (Wirastuti dkk., 2016).

3. Analisis kuantitatif dengan Spektrofotometri UV-Vis

a. Penentuan panjang gelombang maksimum

Dipipet 0,5 mL larutan baku 100 ppm, dimasukkan dalam labu ukur 5,0 mL ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas dan didapatkan

larutan dengan konsentrasi 10 ppm. Larutan ini kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 200 – 400 nm.

b. Pembuatan seri larutan baku prednison

Dipipet larutan baku 100 ppm sebanyak 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; dan 0,8 mL lalu dimasukkan dalam labu ukur 5,0 mL kemudian ditambahkan dengan larutan blanko etanol *p.a* sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 6, 8, 10, 12, 14, dan 16 ppm. Setelah itu dilakukan pembacaan absorbansi dari masing-masing larutan.

c. Pembuatan larutan sampel

Ditimbang 100,0 mg serbuk jamu kemudian dilarutkan dengan etanol *p.a* pada labu ukur 5,0 mL, setelah itu disaring dan ditampung ekstrak cair jamu. Diperoleh konsentrasi larutan sampel 20.000 ppm.

d. Pengukuran absorbansi sampel

Larutan sampel dari konsentrasi 20.000 ppm dipipet 62,5 μ L lalu dimasukkan labu ukur 5,0 mL sehingga diperoleh konsentrasi 250 ppm, ditambah etanol *p.a* hingga tanda batas. Selanjutnya diukur serapan absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang sudah ditentukan. Setelah itu akan diperoleh data absorbansi kemudian dibuat kurva linier yang digunakan untuk perhitungan kadar prednison dalam sampel jamu.

H. Analisis Data

1. Perhitungan nilai Rf

Rf (*retardation factor*) merupakan nilai yang menunjukkan perpindahan jarak senyawa yang ada pada lempeng KLT. Penentuan nilai Rf dilakukan untuk membandingkan jarak perpindahan noda analit dengan jarak fase gerak. Nilai Rf dapat dihitung dengan rumus: (Wulandari, 2011).

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

2. Perhitungan kadar kandungan prednison

a. Penentuan kadar

Data hasil analisis kandungan BKO prednison dalam sampel jamu pegal linu akan diperoleh nilai absorbansi dan kadar dari masing-masing sampel. Hasil absorbansi dapat dihitung dan dihubungkan antara konsentrasi sampel (x) dengan absorbansi sampel (y) dengan persamaan :

$$Y = bx + a$$

Kemudian dapat dilanjutkan perhitungan kadar dengan menggunakan rumus :

$$x = \frac{y-a}{b}$$

b. Rata rata

Rata-rata merupakan nilai yang didapat dari sejumlah kelompok data yang dibagi dengan total banyaknya data, dituliskan dengan rumus sebagai berikut : (Hesni,2020).

$$\bar{X} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{n}$$

Keterangan :

\bar{X} = rata-rata

$x_1, x_2, x_3 \dots x_n$ = nilai data

n = jumlah data

c. Standar Deviasi (S)

Standar deviasi adalah nilai akar pangkat dua dari variasi, dinyatakan dalam rumus : (Hesni, 2020).

$$SD = \sqrt{S^2}$$

Keterangan :

SD = standar deviasi

S^2 = variasi

d. CV

Koefisien variasi adalah perbandingan antara standar deviasi dan rata-rata yang dihitung dari perbandingan antara standar deviasi dan rata-rata suatu distribusi. Semakin tinggi nilai koefisien variasi, data nya tidak merata (heterogen), semakin kecil koefisien variasi, datanya diperoleh secara merata (homogen) (Biswas dkk., 2015; Yusniyanti & Kurniati, 2017).

$$CV\% = \frac{Sx}{rata-rata} \times 100$$

Keterangan :

CV = koefisien variasi

Sx = standar deviasi

Rata-rata = nilai rata-rata hitung

e. LE

Limit of error atau batas kesalahan adalah batas maksimum atau perkiraan maksimum kesalahan dalam suatu perhitungan sampel. Dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut : (Hartland, 2020).

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

Keterangan :

LE = limit of error

t = nilai t tabel

SD = standar deviasi

N = banyaknya sampel