

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Penelitian ini berupa penelitian non eksperimental berupa deskriptif dimana untuk mengetahui keberadaan sibutramin HCl pada sampel jamu pelangsing serbuk secara kualitatif dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan *scanning* panjang gelombang, sedangkan secara kuantitatif dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

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

##### 1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biofarmakologi, Program Studi Farmasi (S-1), Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta.

##### 2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilangsungkan mulai bulan Mei 2024 sampai bulan Juli 2024.

#### **C. Sampel penelitian**

Teknik Pemilihan sampel dilakukan melalui teknik *purposive sampling*, dengan karakteristik-karakteristik tertentu, seperti:

##### 1. Kriteria inklusi:

- a. Jamu dengan klaim pelangsing
- b. Berbentuk serbuk
- c. Kemasan dengan label BPOM, tanpa label BPOM, dan berlabel BPOM tetapi tidak terdaftar
- d. Sampel yang dipilih berbeda merek
- e. Rentang harga Rp5000,00 – Rp25.000,00
- f. Diperoleh dari pasar Kota Yogyakarta.

2. Kriteria eksklusi: jamu serbuk pelangsing yang melewati masa *expired date* dan kemasan rusak.

Sampel yang diambil pada penelitian berupa jamu pelangsing sediaan serbuk yang tersebar di lima pasar Kota Yogyakarta, yaitu pasar Beringharjo, Kota Gede, Serangan, Prawirotaman Baru, dan Demangan dengan masing-masing pasar diambil sebanyak 2 sampel jamu.

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

Variabel-variabel yang akan digunakan pada penelitian ini adalah:

1. Variabel independen

Beberapa merek sampel jamu pelangsing sediaan serbuk yang berasal dari pasar Kota Yogyakarta yaitu pasar Beringharjo, Kota Gede, Serangan, Prawirotaman Baru, dan Demangan.

2. Variabel dependen

Mencakup parameter nilai Rf, panjang gelombang sampel (hasil *scanning*) dan kadar sibutramin HCl.

3. Variabel terkontrol

Kriteria inklusi sampel dan pelarut sibutramin HCl (metanol dan akuades).

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

1. Sampel jamu yang digunakan diperoleh dari pasar Kota Yogyakarta dengan kriteria inklusi dan kriteria eksklusi.
2. Sampel jamu yang diperoleh dilarutkan dalam metanol *p.a* untuk uji kualitatif berupa KLT dan sampel yang dilarutkan dengan akuades untuk uji kuantitatif berupa *scanning* panjang gelombang serta uji kuantitatif dengan metode spektrofotometri UV-Vis.
3. Konsentrasi sibutramin HCl dalam sampel dinyatakan dalam satuan %b/b.

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

1. Alat

Alat yang dipergunakan pada penelitian ini berupa set alat gelas (*Iwaki*), neraca analitik (*Ohaus PA224*), seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis (*Thermo scientific Genesys 10S*), *chamber* (Lokal), mikropipet (*Ohaus*), neraca semi mikro (*Ohaus EX 225D*), dan sonikator (*GT sonic*).

## 2. Bahan

Bahan yang dipergunakan pada penelitian berupa sampel jamu serbuk pelangsing dari berbagai merek yang didapatkan di pasar kota Yogyakarta, baku pembanding sibutramin HCl monohidrat (BPFI), toluen *pro analysis* (Merck), metanol *pro analysis* (Merck), akuades, plat KLT F254 (Merck), *white tip*, dan kertas saring.

### G. Pelaksanaan Penelitian

#### 1. Pengumpulan sampel

Sampel berbagai merek jamu pelangsing sediaan serbuk yang didapatkan dari pasar-pasar Kota Yogyakarta berdasarkan kriteria sampel dapat dilihat pada **Tabel 3**.

**Tabel 3. Kriteria sampel**

Sampel	Pasar	Keterangan
A	Beringharjo	Tidak berlabel BPOM
B	Kotagede	Berlabel BPOM dan tidak terdaftar
C	Beringharjo	Berlabel BPOM dan terdaftar
D	Kotagede	Berlabel BPOM dan terdaftar
E	Serangan	Tidak berlabel BPOM
F	Serangan	Berlabel BPOM dan terdaftar
G	Prawirotaman Baru	Berlabel BPOM dan terdaftar
H	Prawirotaman Baru	Berlabel BPOM dan terdaftar
I	Demangan	Berlabel BPOM dan terdaftar
J	Demangan	Berlabel BPOM dan terdaftar

#### 2. Analisis kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

##### a. Larutan baku sibutramin HCl 500 ppm

Larutan baku dibuat dengan menimbang sibutramin HCl dengan seksama sebesar 25 mg, dimasukkan ke dalam labu takar 50 mL, kemudian dilarutkan dengan metanol *p.a* hingga tanda batas. Setelah itu dilakukan pengenceran menjadi 50 ppm dengan cara diambil 1 mL larutan baku 500 ppm, dimasukkan ke dalam ke labu takar 10 mL lalu ditambahkan metanol *p.a* hingga tanda batas (Larutan 1) (Wisnu *et al.*, 2017).

b. Larutan uji sampel jamu konsentrasi 100.000 ppm

Sebanyak 1 gram sampel ditimbang seksama, lalu dimasukkan ke dalam gelas *beaker* dan dilarutkan dengan 5 mL metanol *p.a* kemudian dicampur homogen selama 30 menit dan disaring. Filtrat yang dihasilkan kemudian dimasukkan ke dalam labu takar berukuran 10 mL dan ditambahkan dengan metanol *p.a* hingga mencapai tanda batas (Larutan 2) (Wisnu *et al.*, 2017).

c. Identifikasi sampel dengan KLT

Ditotolkan masing-masing larutan 1 dan larutan 2 secara terpisah di plat KLT yang telah diaktifkan dengan jarak penotolan masing-masing 1 cm. Setelah penotolan kering, dimasukkan plat pada *chamber* KLT yang telah dijenuhkan menggunakan fase gerak. Jika fase gerak yang membawa analit sudah menyentuh tanda batas atas, plat diambil dan dianginkan sampai kering. Dilihat noda bercak pada plat di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Hasil kualitatif nilai KLT diperoleh dengan membandingkan nilai  $R_f$  standar dengan nilai  $R_f$  sampel.

Fase gerak : Toluena dan metanol (9:1)

Fase diam : Plat silika gel F254

Volume penotolan : 5 totolan

3. Analisis kualitatif sampel jamu dengan Spektrofotometer UV-Vis

Ditimbang sampel jamu dengan cara seksama sebanyak 200,0 mg sampel jamu pelangsing, dimasukkan pada labu takar 25,0 mL, kemudian ditambahkan akuades, dan disonikator selama 30 menit. Setelah itu, larutan disaring dan dipipet 250  $\mu$ L. Ditambahkan akuades pada larutan hingga mencapai volume 10,0 mL dalam labu takar. Dilakukan pembacaan untuk mencari panjang gelombang maksimum sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis dalam rentang panjang gelombang 200 – 400 nm (Wisnu *et al.*, 2017). Sampel dinyatakan positif mengandung Sibutramin HCl jika mempunyai panjang gelombang maksimum sampel  $\pm 2$  nm sama seperti standar.

4. Analisis kuantitatif kadar sibutramin HCl dengan Spektrofotometer UV-Vis

a. Pembuatan larutan induk sibutramin HCl 1000 ppm

Dilakukan pembuatan larutan induk sibutramin HCl dengan konsentrasi 1000 ppm dengan langkah pertama menimbang secara seksama 100,0 mg baku sibutramin HCl, yang kemudian dilarutkan dalam akuades hingga mencapai tanda batas 100,0 mL dalam labu takar (Wisnu *et al.*, 2017).

b. Penentuan panjang gelombang ( $\lambda$ ) maksimum sibutramin HCl

Penentuan panjang gelombang maksimum sibutramin HCl dilakukan pada konsentrasi 50 ppm dengan cara dipipet 50  $\mu$ L pada larutan induk 1000 ppm ke dalam labu takar 10,0 mL kemudian ditambahkan akuades hingga mencapai batas labu takar. Setelah itu, dilakukan pembacaan untuk mencari panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis dalam rentang panjang gelombang 200 – 400 nm (Wisnu *et al.*, 2017).

c. Pembuatan larutan seri konsentrasi sibutramin HCl

Larutan baku sibutramin HCl dengan dibuat seri konsentrasi 2, 3, 4, 5, dan 6 ppm dari larutan induk 1000 ppm sebanyak 10,0 mL. Larutan tersebut selanjutnya diukur serapannya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang sudah didapatkan (Wisnu *et al.*, 2017).

d. Preparasi dan penetapan kadar sibutramin HCl dalam sampel jamu

Ditimbang dengan cara seksama sebanyak 200,0 mg sampel jamu pelangsing, dimasukkan pada labu takar 25,0 mL, kemudian ditambahkan akuades, dan disonikator selama 30 menit. Setelah itu, larutan disaring dan dipipet 250  $\mu$ L. Ditambahkan akuades pada larutan hingga mencapai volume 10,0 mL dalam labu takar (pengenceran 40 kali). Selanjutnya, hasil pengenceran diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada  $\lambda$  maksimum yang didapatkan (Sylvia *et al.*, 2018).

## H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

### 1. Perhitungan kadar sibutramin HCl

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 dihitung kadar dengan rumus berikut:

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

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 hasil dari pembagian keseluruhan nilai dalam data dengan total jumlah data, yang dihitung dengan cara sebagai berikut.

$$\bar{X} = \frac{\sum x}{N}$$

Dimana:

$\bar{X}$  = Nilai rata-rata

x = Jumlah semua data  $x_1+x_2+3\dots x_N$

N = Banyaknya data (Rama, 2020)

### 3. Standar Deviasi (SD)

Standar deviasi merupakan sebaran data dalam distribusi normal. Dengan kata lain, SD menunjukkan seberapa akurat mean mewakili data sampel.

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

Dimana:

- SD = Standar deviasi  
 $x_i$  = Nilai tengah  
 $\bar{X}$  = Nilai rata-rata  
 $f_i$  = Frekuensi (Hartland, 2020)

#### 4. *Coefficient Variation (CV)*

*Coefficient variation* ialah perbandingan antara nilai standar deviasi (SD) dan rata-rata nilai dari sebuah distribusi. Apabila nilai CV semakin besar maka data yang didapatkan tidak merata (heterogen), namun apabila nilai CV semakin kecil maka data yang didapatkan akan merata (homogen), nilai CV dapat dihitung dengan cara berikut:

$$CV = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\%$$

Dimana:

- CV = *Coefficient variation*  
SD = Standar deviasi  
 $\bar{X}$  = Nilai rata-rata (Hartland, 2020)

#### 5. *Limit of Error (LE)*

*Limit of error (LE)* adalah suatu standar yang digunakan dalam menilai atau memperkirakan akurasi rata-rata atau proporsi dari sampel yang mencerminkan populasi sebenarnya (Hartland, 2020). Perhitungan nilai LE dilakukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Dimana:

- LE = *Limit of error*  
t = Nilai t tabel  
SD = Standar deviasi  
N = Banyaknya sampel