

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian menerapkan teknik non-eksperimental melalui pendekatan deskriptif. Proses ekstraksi sampel jamu pegal linu dilakukan menggunakan pelarut metanol *p.a.* Setelah itu, ekstrak yang diperoleh digunakan untuk mengidentifikasi komponen-komponen secara kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Selanjutnya, dilakukan uji kuantitatif untuk menentukan kadar fenilbutazon dalam sampel menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.

B. Lokasi dan Waktu

1. Lokasi Penelitian

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

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan mulai bulan Mei 2024 sampai Juni 2024.

C. Sampel Penelitian

Penelitian dilakukan dengan metode sampling menggunakan *purposive sampling* yang diambil dari pasar Gamping, pasar Bantul, pasar Sentolo, pasar Karangmojo, dan pasar Beringharjo dengan masing-masing pengambilan sampel sebanyak 1 berdasarkan ciri-ciri seperti berikut ini:

1. Kriteria inklusi: Jamu cair yang menggunakan kemasan bertuliskan pegal linu, *range* harga Rp10.000 - Rp35.000, dengan label BPOM tetapi tidak terdaftar secara resmi dalam BPOM dan tanpa label BPOM.

2. Kriteria eksklusi: jamu yang digunakan bermerek yang sama, kemasan yang terdapat keterangan label BPOM dan sudah terdaftar secara resmi dalam web BPOM, kemasan yang sudah rusak dan juga jamu cair pegal linu yang sudah kadaluarsa.

D. Variabel Penelitian

Berikut variabel yang digunakan:

1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini berupa berbagai merek jamu pegal linu dan lokasi pengambilan sampel.

2. Variabel Terikat

Variabel ini berupa nilai R_f dan jumlah kadar kandungan kimia obat fenilbutazon.

3. Variabel Terkendali

Variabel terkendali penelitian ini berupa sampel sediaan jamu cair pegal linu yang diambil dari lima Kabupaten yang ada di Yogyakarta, dengan *range* harga Rp10.000 – Rp35.0000 dan menggunakan pelarut etanol *p.a.*

E. Definisi Operasional

1. Penelitian ini mengumpulkan sampel jamu dari lima Kabupaten Yogyakarta, yaitu Kabupaten Sleman (pasar Gamping), Kabupaten Bantul (pasar Bantul), Kabupaten Gunung Kidul (pasar Karangmojo), Kabupaten Kulon Progo (pasar Sentolo), dan Kota Yogyakarta (pasar Beringharjo) dengan menggunakan kriteria inklusi dan eksklusi.
2. Sampel yang diperoleh kemudian diekstraksi dengan pelarut metanol *p.a.* Ekstrak yang diperoleh kemudian digunakan untuk uji kualitatif Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan uji kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis.
3. Hasil dari KLT diperoleh dari nilai R_f , sedangkan hasil dari spektrofotometri UV-Vis diperoleh dalam satuannya persen (%b/v).

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Penggunaan peralatan mencakup timbangan analitik (*Ohaus*), timbangan semi mikro (*Ohaus*), sentrifugasi (*Centrifuge Hettich EBA 200*), spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10S UV-Vis*), *chamber*, penangas air, pipet ukur (*Iwaki*), cawan porselin, spatula, alat gelas (*Iwaki Pyrex*), dan mikropipet (*Ohaus*).

2. Bahan

Bahan terdiri dari sampel jamu cair pegal linu yang diambil dari berbagai merek dari lima Kabupaten yang ada di Yogyakarta yaitu Sleman, Bantul, Gunung Kidul, Kulon Progo, dan Kota Yogyakarta, baku pembanding fenilbutazon (BPFI), metanol *pro analysis* (*Merck*), etanol *pro analysis* (*Merck*), *aquadest*, alumunium foil, kertas saring, lempeng silika F254 (*merck*), etil asetat, *white tip*, dan n-heksan.

G. Pelaksanaan Penelitian

1. Pengumpulan Sampel

Sampel jamu pegal linu cair dengan beberapa merek dikumpulkan dari lima pasar yang ada di Kabupaten Yogyakarta, yaitu pasar Gamping, pasar Bantul, pasar Karangmojo, pasar Sentolo, dan pasar Beringharjo yang sesuai dengan kriteria sampel.

2. Uji Organoleptis

Uji Organoleptis merupakan uji melalui pengamatan langsung dengan panca indera manusia sebagai evaluasi warna, bentuk sediaan, dan aroma (Maharani *et al.*, 2023).

3. Analisis Kualitatif

a. Pembuatan larutan standar Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Sebanyak kurang lebih 25,0 mg standar fenilbutazon ditimbang menggunakan timbangan semi mikro. Selanjutnya, dituang dalam labu ukur berukuran 25,0 mL, dan dilarutkan menggunakan pelarut etanol *p.a* hingga tanda batas.

b. Preparasi sampel

Preparasi sampel dirujuk dari Taupik *et al.*, (2020) dengan modifikasi. Diambil sampel jamu sebanyak 2 mL menggunakan pipet ukur, setelah itu masukkan dalam *beaker glass*, lalu ditambahkan metanol *p.a* sebanyak 5 mL. Sampel diekstraksi menggunakan sentrifugasi dengan kecepatan putar sebesar 1500 rpm. Supernatan yang diperoleh dari hasil sentrifugasi diuapkan hingga menghasilkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh ditambahkan metanol *p.a* sebanyak 1 mL, lalu disaring dengan kertas *Whatman* dalam labu ukur 10 mL dan dilarutkan menggunakan metanol *p.a* hingga tanda batas. Proses yang sama dilakukan untuk setiap sampel jamu hingga sampel terakhir.

c. Pengerjaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Fase gerak yang dipakai berupa campuran etil asetat dan n-heksan melalui perbandingan 1: 4, kemudian untuk fase diam yang dipakai yaitu lempeng silika F254 (*Merck*). Sebelum fase diam plat KLT digunakan untuk pengujian sampel, plat harus ditempatkan terlebih dahulu pada oven selama 30 menit menggunakan suhu 110°C. Selanjutnya, larutan sampel dan larutan standar fenilbutazon diaplikasikan menggunakan *white tip* dengan jarak antar titik ± 1 cm. Disiapkan 10 mL fase gerak, kemudian plat yang berisikan sampel dan standar dielusi hingga tinggi sekitar 5 cm pada ruang kaca yang sebelumnya telah dijenuhkan dengan kertas saring. Hasil elusi diamati di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 dan 366 nm, dicatat dan nilai R_f dihitung untuk setiap titiknya (Abdullah *et al.*, 2023).

4. Analisis Kuantitatif

a. Pembuatan larutan standar Spektrofotometri UV-Vis

Timbang seksama 10,0 mg fenilbutazon menggunakan timbangan semi mikro dan dilarutkan dengan etanol *p.a* pada labu ukur 10 mL

untuk membuat larutan induk fenilbutazon konsentrasi 1000 ppm. (Abdullah *et al.*, 2023).

b. Pembuatan larutan uji

Diambil sampel jamu sebanyak 2 mL menggunakan pipet ukur kemudian dimasukkan kedalam *beaker glass* lalu ditambahkan etanol *p.a* sebanyak 5 mL. Setelah itu sampel disentrifugasi dengan kecepatan putar 1500 rpm selama 15 menit. Hasil dari sentrifugasi disaring dengan kertas *Whatman* kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL dan dilarutkan menggunakan etanol *p.a* hingga tanda batas (Abdullah *et al.*, 2023).

c. Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara mengukur serapan larutan baku induk pembanding fenilbutazon (BPFI) pada konsentrasi 8 ppm. Setelah itu nilai serapannya diamati pada panjang gelombang serapan maksimum dalam rentang 210 - 400 nm (Abdullah *et al.*, 2023).

d. Pembuatan kurva baku

Larutan baku fenilbutazon dengan konsentrasi 1000 ppm dibuat seri konsentrasi 5, 6, 7, 8, 9 dan 10 ppm dengan cara dipipet sebanyak 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 μ L. Larutan ini kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan menggunakan etanol *p.a* hingga mencapai tanda batas. Setiap konsentrasi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang sudah diperoleh sebelumnya. Selanjutnya, setiap konsentrasi lalu diplot dengan absorbansi untuk menghitung regresi linear. Persamaan regresi linear digunakan untuk menentukan kadar fenilbutazon pada sampel jamu yang diuji (Abdullah *et al.*, 2023).

e. Penetapan kadar fenilbutazon dalam jamu

Hasil dari preparasi sampel dilakukan pengenceran sebanyak 0,15 mL dalam labu ukur 10 mL yang dilarutkan menggunakan pelarut etanol *p.a* hingga tanda batas. Absorbansi larutan uji diukur

menggunakan panjang gelombang tertinggi yang dicatat. Pembacaan kadar dalam sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Krishindardi *et al.*, 2023).

H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

1. Perhitungan Kadar Fenilbutazon

Untuk menghitung persamaan kurva baku dari data serapan, maka diketahui persamaan garis $y = bx + a$ dengan nilai r dekat dengan 1 atau minimal 0,9. Perhitungan kadar dapat dihitung menggunakan rumus berikut:

$$C = \frac{(X \times V \times F)}{V_s}$$

Keterangan:

C = Kadar sesungguhnya

X = Nilai kadar sampel

V = Volume larutan sampel

F = Faktor pengenceran

Vs = Volume penimbangan sampel (Abdullah *et al.*, 2023)

2. Menghitung Nilai Rata-Rata ($\bar{x}$)

Perhitungan ini berkaitan dengan jumlah keseluruhan nilai total yang diperoleh kemudian dilakukan pembagian dengan jumlah total data. Rumusnya adalah:

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

Keterangan:

$\bar{x}$ = nilai dari rata-rata

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

N = jumlah frekuensi (Immanuel & Setiawan, 2020)

3. Standar Deviasi (S)

Rumus berikut menunjukkan standar deviasi, yang merupakan akar pangkat dua dari variansi:

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

Keterangan:

S = Standar deviasi

S^2 = Variansi (Hesni, 2020)

4. *Coefficient Variation (CV)*

Coefficient of Variation (CV) adalah nilai yang dihitung dengan membagi simpangan baku (standar deviasi) dengan nilai rata-rata, kemudian hasilnya dikalikan dengan 100%. Jika nilai CV kurang dari 2%, maka metode tersebut dianggap memiliki presisi yang baik.

Dituliskan dalam rumus:

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

Keterangan:

CV = *Coefficient Variation* (koefisien variasi)

SD = Nilai standar deviasi

$\bar{x}$ = Nilai rata-rata (Muryanto, 2020)

5. Interval Kepercayaan (*Limit of error*)

Metode ini merupakan parameter yang digunakan untuk mengukur keakuratan estimasi atau proporsi suatu populasi berdasarkan sampel yang diambil.

Dimana dituliskan dalam rumus berikut:

$$LE = t \text{ tabel} \times \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

Keterangan:

LE = *limit of error*

t = nilai t tabel

SD = standar deviasi

n = jumlah seluruh sampel (Wicaksono *et al.*, 2017)