

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian yang dilakukan termasuk penelitian deskriptif non-eksperimental guna mengetahui keberadaan deksametason dalam sampel jamu pegal linu yang dilarutkan dengan pelarut metanol. Sampel dianalisis secara kualitatif dengan *scanning* panjang gelombang maksimum, serta secara kuantitatif dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

B. Lokasi dan Waktu

1. Lokasi Penelitian

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

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Maret 2025 hingga bulan Mei 2025.

C. Sampel Penelitian

Teknik sampling yang dilakukan pada penelitian ini yaitu dengan teknik *purposive sampling*, dengan kriteria sampel di antaranya seperti:

1. Kriteria inklusi: Jamu pegal linu racikan yang didapatkan dari depot jamu di daerah Kecamatan Wonosobo, *range* harga Rp10.000 – Rp30.000, jamu pegal linu tanpa label BPOM maupun tanpa merek, jamu pegal linu yang mencantumkan dengan ED maupun tanpa ED.
2. Kriteria eksklusi: Jamu pegal linu serbuk dan cair, jamu pegal linu yang didapatkan di luar daerah Kecamatan Wonosobo, jamu pegal linu dengan label BPOM maupun terdapat merek.

Sampel yang diambil pada penelitian adalah 5 sampel jamu pegal linu racikan yang ada di Kecamatan Wonosobo, dengan diambil 1 jamu dari masing-masing depot jamu.

D. Variabel Penelitian

Berikut merupakan beberapa variabel penelitian yang digunakan yaitu:

1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah sampel jamu pegal linu racikan yang didapatkan dari depot jamu Kecamatan Wonosobo.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah parameter uji kualitatif yang berupa *scanning* panjang gelombang maksimal dan uji warna dengan reagen asam sulfat (H_2SO_4) dan asam asetat anhidrat $[(CH_3CO)_2O]$. Sementara itu, untuk uji kuantitatif dalam bentuk kadar deksametason.

3. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah sampel jamu pegal linu racikan dan pelarut metanol *p.a.*

E. Definisi Operasional

1. Sampel yang digunakan adalah jamu pegal linu racikan yang diperoleh dari depot jamu di daerah Kecamatan Wonosobo, sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan.
2. Sampel yang didapat dilarutkan dengan pelarut metanol *p.a* untuk dilakukan uji kualitatif berupa *scanning* panjang gelombang maksimal dan uji warna dengan reagen H_2SO_4 dan $[(CH_3CO)_2O]$. Sementara itu, untuk uji kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis.
3. Konsentrasi deksametason pada sampel dinyatakan dalam konsentrasi %b/v.

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini, antara lain mikropipet (*Ohaus*), spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10*), alat gelas (*Iwaki*), pipet ukur (*Iwaki*), mikropipet (*Bio-lab*), dan timbangan semi mikro (*Ohaus*).

2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini, antara lain sampel jamu pegal linu racikan yang diperoleh di depot jamu Kecamatan Wonosobo, standar deksametason (*Phapros*), kertas saring, metanol *p.a* (*Merck*), kloroform *p.a* (*Merck*), asam sulfat (*Mellinkord*), asam asetat anhidrat (*Merck*), dan *blue tip*.

G. Pelaksanaan Penelitian

1. Pengumpulan Sampel

Sampel jamu pegal linu racikan cair yang diperoleh dari depot jamu di Kecamatan Wonosobo sesuai dengan kriteria sampel.

2. Uji Organoleptik

Sampel jamu pegal linu dideskripsikan secara organoleptis berdasarkan bentuk sediaan, warna, bau, dan rasa (Permatasari *et al.*, 2022).

3. Preparasi Sampel Jamu

Pada masing-masing sampel yang diperoleh diambil sejumlah 2 mL, lalu ditempatkan pada gelas *beaker* dan ditambahkan kloroform : metanol *p.a* (9:1). Setelah itu, aduk dengan *magnetic stirrer* di atas *hot plate* selama 30 menit. Sampel dimasukkan pada corong pisah dan ditunggu hingga terpisah antara fase air dan fase kloroform, kemudian diambil fase kloroform dan dilakukan proses penyaringan. Selanjutnya, filtrat dimasukkan ke dalam labu takar 10,0 mL dan ditambahkan kembali dengan metanol *p.a* hingga tanda batas labu ukur (Larutan A). Larutan A dipipet sejumlah 0,5 mL dan dimasukkan pada labu takar 10,0 mL, lalu metanol *p.a* ditambahkan hingga tanda batas (Mayasari, 2024).

4. Analisis Kualitatif

a. Uji *Liebermann-Burchard*

Uji *Liebermann-Burchard* berdasarkan penelitian Lovianasari *et al.*, (2021) dengan modifikasi. Sampel jamu yang sudah dipreparasi diambil sebanyak 2 mL, kemudian dimasukkan 2 mL asam sulfat (H_2SO_4) pekat, lalu dididihkan dan disaring dalam keadaan panas. Selanjutnya, ditambahkan 2 mL asam asetat anhidrat $[(CH_3CO)_2O]$. Positif steroid

ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi biru atau hijau (Lovianasari *et al.*, 2021).

b. Penentuan panjang gelombang maksimum sampel jamu

Larutan hasil preparasi sampel jamu dimasukkan ke dalam kuvet dan dilakukan pengukuran serapan pada panjang gelombang antara 200 – 400 nm (Ryansyah, 2022). Sampel dinyatakan positif mengandung deksametason jika panjang gelombang maksimal yang diperoleh sesuai dengan panjang gelombang maksimal teoritis dengan perbedaan tidak lebih dari 3% (Depkes RI, 2020).

5. Analisis Kuantitatif

a. Pembuatan larutan baku deksametason

Larutan baku deksametason ditimbang secara seksama sebesar 10,0 mg, kemudian ditempatkan ke dalam labu takar kapasitas 100,0 mL. Selanjutnya, dilarutkan dengan sebagian metanol *p.a*, dikocok perlahan sampai homogen. Setelah itu, metanol *p.a* ditambahkan hingga mencapai tanda batas labu takar sehingga didapatkan larutan baku dengan konsentrasi 100 ppm (Ryansyah, 2022).

b. Penentuan panjang gelombang larutan baku deksametason

Larutan baku deksametason 100 ppm diambil sebanyak 1,1 mL, lalu dipindahkan ke dalam labu takar kapasitas 10,0 mL, kemudian ditambahkan metanol *p.a* hingga garis batas labu takar sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 11 ppm. Selanjutnya, diukur serapannya pada rentang panjang gelombang 200 – 400 nm (Ryansyah, 2022).

c. Pembuatan kurva kalibrasi

Larutan baku deksametason 100 ppm diambil sebanyak 0,8; 0,9; 1,0; 1,1; 1,2; dan 1,3 mL, kemudian ditempatkan masing – masing volume pada labu takar 10 mL, lalu ditambahkan metanol *p.a* sampai garis batas labu ukur sehingga diperoleh masing – masing konsentrasi 8, 9, 10, 11, 12, dan 13 ppm. Setelah itu, diukur serapannya pada panjang gelombang maksimal yang didapatkan (Mayasari, 2024).

d. Pengukuran larutan sampel jamu

Pada masing – masing sampel hasil preparasi diukur serapannya pada panjang gelombang maksimal yang didapatkan. Jika diperoleh absorbansi sampel melebihi *range* absorbansi kurva kalibrasi, maka diperlukan proses pengenceran pada sampel (Ryansyah, 2022).

H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

1. Penentuan Kadar Deksametason

Analisis data dalam penelitian dilakukan dengan menghubungkan konsentrasi (x) dengan absorbansi (y), yang dihitung melalui regresi linier dan dinyatakan dalam bentuk rumus $y = bx + a$, sehingga diperoleh nilai x (konsentrasi) dalam satuan ppm dengan cara $x = \frac{y-a}{b}$, selanjutnya satuan dikonversi menjadi mg/mL. Setelah itu, dihitung nilai kadar sesungguhnya (C) menggunakan rumus:

$$C = \frac{X \times V \times FP}{V \text{ sampel}}$$

Keterangan:

X = Konsentrasi (ppm)

V = Jumlah volume larutan (mL)

FP = Faktor pengenceran

V sampel = Volume sampel (mL)

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

Seluruh nilai yang diperoleh, setelah dibagi dengan jumlah data, dihitung menggunakan rumus berikut:

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

Keterangan:

\bar{X} = Nilai rata-rata

X = Jumlah nilai dari $X_1 + X_2 + \dots + X_n$

N = Jumlah frekuensi (Bardja, 2017).

3. Standar Deviasi (SD)

Hasil akar pangkat dua dari variansi, yang menggambarkan tingkat penyebaran atau deviasi data dari rata-ratanya (Hesni, 2020).

4. *Coefficient Variation* (CV)

Perbandingan antara standar deviasi dan mean diperoleh dari selisih kedua nilai dalam distribusi. Jika koefisien variasi yang dihitung menunjukkan nilai besar, maka data yang dihasilkan bersifat tidak merata (heterogen). Sebaliknya, jika koefisien variasinya kecil, maka data cenderung lebih seragam. Rumus dari CV sebagai berikut:

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

Keterangan:

CV = *Coefficient of variation* (koefisien variasi)

SD = Simpangan baku (Standar deviasi)

\bar{X} = Nilai rata-rata hasil (Yusniyanti & Kurniati, 2017).

5. Interval Kepercayaan (*Limit of error*)

Parameter yang digunakan untuk menilai atau memperkirakan tingkat keakurata rata-rata atau proporsi suatu sampel dalam merepresentasikan populasi sebenarnya (Hartland, 2020)

Dihitung menggunakan rumus:

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

Keterangan

LE = Batas kesalahan (*Limit of error*)

t = Nilai t tabel

SD = Simpangan baku

N = Jumlah sampel