

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian yang dilaksanakan yaitu berjenis penelitian non eksperimental berupa deskriptif menggunakan sampel jamu pelangsing serbuk yang diekstraksi cair-cair menggunakan eter, kemudian ekstrak yang terbentuk dilarutkan menggunakan etanol 96%. Hasil ekstraksi digunakan untuk analisis kualitatif. Sedangkan analisis kuantitatif sampel jamu langsung dilarutkan dengan etanol 96%.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

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

2. Waktu Penelitian

Waktu pelaksanaan dimulai dari bulan April 2024 hingga bulan Mei 2024.

C. Sampel Penelitian

Teknik *sampling* yang akan dilakukan yaitu *Non-probability* berupa *purposive sampling*, dengan karakteristik sampel diantaranya yaitu:

1. Kriteria Inklusi: jamu serbuk dengan klaim sebagai pelangsing yang diperoleh dari pasar tradisional Yogyakarta, jamu pelangsing yang tidak berlogo BPOM dan berlogo BPOM dengan *range* harga Rp15.000-30.000.
2. Kriteria Eksklusi: jamu pelangsing serbuk dengan merek yang sama, melewati masa *expired date* dan jamu pelangsing serbuk dengan kemasan rusak.

Sampel yang diambil pada penelitian yaitu 10 sampel jamu pelangsing serbuk yang tersebar di 5 pasar tradisional Yogyakarta, diantaranya pasar Beringharjo, pasar Kranggan, pasar Legi Kotagede, pasar Karangwaru, dan pasar Tamansari. Masing-masing pasar diambil sebanyak 2 sampel jamu untuk dijadikan sampel

penelitian. Pemilihan kelima sampel tersebut diperoleh dari rumus $\sqrt{N+1}$ dan berdasarkan kriteria yang telah ditentukan.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian berupa beberapa merek sampel jamu pelangsing serbuk yang ada di pasar tradisional Yogyakarta, yaitu pasar Beringharjo, pasar Kranggan, pasar Legi Kotagede, pasar Karangwaru, dan pasar Tamansari.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian berupa kandungan dan kadar senyawa furosemid.

3. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol penelitian ini berupa bentuk sediaan sampel, tempat pengambilan sampel di pasar tradisional Yogyakarta, harga sampel Rp15.000-30.000, dan etanol 96%.

E. Definisi Operasional

1. Sampel jamu pelangsing serbuk yang digunakan diperoleh dari 5 pasar tradisional Yogyakarta dengan beberapa kriteria yang telah ditentukan yaitu tidak berlogo BPOM pada kemasan jamu, serta harga sekitar Rp 15.000-30.000.
2. Sampel yang diperoleh dilakukan proses pemisahan dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut eter dan hasil ekstrak dilarutkan dalam etanol 96% untuk analisis kualitatif dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dan *scanning* panjang gelombang maksimum dengan melarutkan sampel jamu menggunakan etanol 96%, kemudian analisis kuantitatif sampel jamu langsung dilarutkan dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Hasil larutan dianalisis dengan metode spektrofotometri UV-Vis.
3. Konsentrasi furosemid dalam sampel dinyatakan dalam satuan persen (%b/b).

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10*), alat gelas (*Iwaki*), *chamber*, mikropipet (*Ohaus*), timbangan analitik (*Ohaus*), *UV analyzer*, dan sentrifugasi (*Hettich*).

2. Bahan-Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini berupa sampel serbuk jamu pelangsing berbagai merek yang dijual di pasar tradisional Yogyakarta, eter (*Merck*), metanol *p.a* (*Merck*), H_2SO_4 1N, asam asetat glasial (*Merck*), *aquadest*, toluen, etil asetat *p.a* (*Merck*), kertas saring, *white tip*, lempeng silika F_{254} , baku pembanding furosemid (BPFI), Na_2CO_3 5%, dan etanol 96%.

G. Pelaksanaan Penelitian

1. Pengumpulan Sampel

Sampel jamu pelangsing serbuk dengan berbagai merek diperoleh dari 5 pasar tradisional Yogyakarta berdasarkan kriteria sampel.

2. Uji Organoleptis Sampel

Dilakukan uji organoleptis menggunakan panca indra yang meliputi warna, bentuk, rasa, dan aroma (Yuliasuti, 2022).

3. Pembuatan Larutan Uji (Sampel)

Dimasukkan 300,0 mg jamu ke dalam erlenmeyer, ditambahkan 30 mL *aquadest* kemudian dibasakan dengan Na_2CO_3 5% b/v sebanyak 2 mL dan dihomogenkan. Disaring hasil filtrat lalu disentrifugasi kurang lebih 15 menit, ditambahkan H_2SO_4 1 N sebanyak 2 mL hingga muncul reaksi asam, kemudian dimasukkan filtrat ke dalam corong pisah. Diekstraksi dengan eter sebanyak 3 kali sejumlah 20 mL. Setelah itu, fraksi eter ditampung lalu dilakukan proses penguapan hingga terbentuk ekstrak eter. Ekstrak inilah yang akan digunakan untuk menganalisis kualitatif.

4. Pembuatan Baku Pembanding Furosemid 1,0 mg/mL (1000 ppm)

Ditimbang secara seksama 100 mg furosemid, lalu dilarutkan sedikit dengan etanol 96% dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan etanol 96% hingga tanda batas (Paryati & Herdini, 2018).

5. Analisis Kualitatif

a. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

1) Optimasi fase gerak

Dilakukan optimasi fase gerak menggunakan etil asetat : metanol dengan perbandingan 3 : 2 sebanyak 10 mL dan menggunakan fase gerak toluen

: etil asetat : asam asetat dengan perbandingan 17 : 13 : 1 sebanyak 10 mL.

2) Pembuatan fase gerak

Dicampur larutan toluen : etil asetat : asam asetat dengan perbandingan 17 : 13 : 1 sebanyak 10 mL (Zeng *et al.*, 2018).

3) Identifikasi KLT

Diaktifkan terlebih dahulu plat KLT 10 x 5 cm menggunakan oven di suhu 100°C dalam waktu 60 menit (Bali *et al.*, 2014). Ditotolkan masing-masing larutan baku pembanding furosemid serta larutan sampel ±10 µL pada plat KLT secara terpisah dengan masing-masing jarak penotolan 1 cm. Dimasukkan plat tersebut dalam *chamber* yang sudah dijenuhkan menggunakan fase gerak untuk proses migrasi. Plat KLT dikering anginkan setelah fase gerak telah mencapai batas atas. Diamati bercak noda plat di bawah sinar UV 254 nm serta UV 366 nm (Paryati & Herdini, 2018).

4) Identifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis

Hasil pengenceran pada sampel yang diperoleh digunakan untuk uji kualitatif furosemid dengan mencari panjang gelombang maksimum pada rentang 200-400 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Azizah *et al.*, 2022). Sampel dinyatakan positif furosemid jika memberikan panjang gelombang maksimum sampel yang sama ± 3 nm seperti standar.

6. Analisis Kuantitatif dengan Spektrofotometri UV-Vis

a. Penentuan panjang gelombang (λ) maksimum

Dipipet sebanyak 2,5 mL larutan furosemid konsentrasi 1,0 mg/mL (1000 ppm) lalu dimasukkan dalam labu takar ukuran 25 mL dan ditambahkan etanol 96% hingga mencapai tanda batas, maka didapatkan konsentrasi 0,1 mg/mL (100 ppm). Setelah itu dipipet sejumlah 1 mL dari larutan baku furosemid konsentrasi 100 ppm dimasukkan dalam labu takar 10 mL, selanjutnya ditambahkan etanol 96% hingga mencapai tanda batas, maka diperoleh konsentrasi 0,01 mg/mL (10 ppm). Diukur serapan larutan baku

0,01 mg/mL (10 ppm) pada λ 200-400 nm. Panjang gelombang maksimum digunakan untuk penentuan kurva baku serta pengukuran serapan larutan uji.

b. Pembuatan kurva baku

Dibuat seri kurva baku furosemid 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, dan 12 ppm dari konsentrasi 100 ppm dengan mengambil masing-masing sejumlah 0,4 mL; 0,6 mL; 0,8 mL; 1 mL; dan 1,2 mL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10,0 mL lalu ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas. Serapan diukur pada λ maksimum yang telah diperoleh serta dibuat persamaan garis regresi linear.

c. Pengukuran larutan uji sampel

Ditimbang masing-masing sampel sejumlah 200,0 mg kemudian dicampurkan dengan 10,0 mL etanol 96%. Selanjutnya, sebanyak 0,5 mL larutan dipipet dan dimasukkan dalam labu takar 10,0 mL untuk dilakukan proses pengenceran, lalu ditambahkan etanol 96% hingga mencapai tanda batas. Hasil pengenceran kemudian diukur serapannya pada λ maksimum untuk mengetahui kadar furosemid dalam sampel.

H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

1. Perhitungan Rf

Nilai Rf baku dan nilai Rf sampel metode KLT secara kualitatif dihitung menggunakan rumus:

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang dilalui oleh analit}}{\text{Jarak yang dilalui oleh fase gerak}}$$

2. Regresi linear

Regresi linear ialah teknik yang dipakai untuk mendapatkan pola hubungan mengenai satu variabel terikat dengan satu variabel bebas (Nababan & Simamora, 2023).

Kadar senyawa furosemid dihitung dengan persamaan regresi linear memakai rumus:

$$y = bx + a$$

Dimana:

y = Absorbansi Sampel

x = Kadar Sampel (ppm)

Setelah didapatkan nilai x , kemudian nilai kadar sebenarnya dicari pada sampel yang dinyatakan dalam (%) b/b menggunakan rumus:

$$\text{Kadar} = \frac{x \cdot v \cdot Fp}{\text{Bobot}} \times 100\%$$

Dimana:

X = nilai kadar sampel

V = volume larutan

Fp = faktor pengenceran

3. Rata-rata

Rata-rata atau *mean* adalah ukuran yang diperoleh dengan membagi jumlah semua nilai pengukuran dengan banyaknya pengukuran (Herwandar & Soviyati, 2020).

4. *Standard deviation* (SD)

Standar deviasi adalah sebaran data dalam distribusi normal. Dengan kata lain, SD menunjukkan seberapa akurat mean mewakili data sampel (Lee *et al.*, 2015).

5. *Coefficient of variation* (CV)

Koefisien variasi persen (%CV) ialah ukuran variasi yang tidak memiliki satuan dan dapat dianggap sebagai “deviasi standar relatif” karena didefinisikan sebagai deviasi standar dibagi rata-rata dikalikan 100% (Canchola, 2017).

$$CV = \frac{SD}{\text{Rata-rata}} \times 100\%$$

Dimana:

CV: Koefisien variasi

SD: Standar deviasi

6. Interval Kepercayaan (*Limit of error*)

Interval kepercayaan ialah penduga interval dengan suatu koefisien kepercayaan (Fithry *et al.*, 2022). Dicari memakai rumus:

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

Dimana:

LE : *limit of error*

n : banyak sampel

t : nilai *t table*

SD : Standar Deviasi

PERPUSTAKAAN
JENDERAL ACHMAD YANI
UNIVERSITAS YOGYAKARTA