

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah ekperimental. Variabel penelitian ini adalah kandungan deksametason pada jamu pegal linu. Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2023 sampai Juni 2024. Penelitian uji kualitatif Kromatografi Lapis Tipis dan uji kuantitatif Spektrofotometer UV-Vis dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Gresik Jl. Proklamasi No.54 Gresik, 61111. Uji kuantitatif Spektrofotometer UV-Vis dilakukan di Laboratorium Kimia Kampus 1 Universitas Muhammadiyah Gresik Jl. Sumatera No. 101 GKB Gresik , 61121.

#### **3.2. Bahan dan Alat**

##### **3.2.1. Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan untuk penetapan kadar Deksametason adalah sampel jamu pegal linu merek X,Y dan Z, Baku pembanding deksametason, Aseton, Kloroform, Metanol, Aquadest.

##### **3.2.2. Alat Penelitian**

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah Chamber/bejana kromatografi, pipa kapiler, beaker glass, erlenmeyer, labu ukur, gelas ukur, batang pengaduk, alat pengering (oven), neraca analitik, pipet volume, pipet tetes, corong, penjepit kayu, lampu sinar UV 254 nm, Fase diam silika gel GF254 dan kertas saring, spektrofotometer UV-Vis, bulb, kaca arloji, kuvet, spatel.

#### **3.3. Metode Penelitian**

##### **3.3.1 Populasi**

Pada penelitian ini populasi yang digunakan adalah sediaan jamu instan pegal linu yang paling banyak dijual di Pasar Tradisional X. Teknik pengambilan sampel yang digunakan yaitu *purposive sampling* dimana merupakan cara pengambilan sampel yang di targetkan oleh

seorang peneliti dengan karakteristik sampel dalam suatu penelitian (Dana p. Turner, 2020). Adapun total populasi yang didapatkan sebanyak 6 jamu pegal linu yang paling banyak dijual di Pasar Tradisional X. Besar sampel dihitung dengan menggunakan rumus n-plan, sebagai berikut:

$$\begin{aligned} &= \sqrt{n} + 1 \\ &= \sqrt{6} + 1 \\ &= 3,4 \\ &= 3 \text{ sampel} \end{aligned}$$

Keterangan :

Jadi sampel yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 3 jenis sediaan jamu pegal linu yang berbeda dan dibeli di tempat yang berbeda dan diberi kode X,Y dan Z.

### **3.3.2. Analisis Kualitatif Deksametason Dengan Uji Kromatografi Lapis Tipis**

#### **a. Pembuatan Larutan Sampel Jamu**

Sampel jamu pegal linu yang diperoleh masing-masing ditimbang 300 mg. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml, ditambahkan metanol sampai tanda batas. Larutan kemudian disaring dan diambil 5 ml filtrat pertama (Larutan I). Larutan I dipipet 0,5 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml. Kemudian diencerkan dengan metanol sampai tanda batas, kemudian dimasukkan ke dalam botol (Ryansyah, 2022).

#### **b. Pembuatan larutan W (baku pembanding)**

Ditimbang 4 mg deksametason dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan 5 ml aquadest, diaduk sampai homogen (Nadalia, 2021).

#### **c. Pembuatan Fase Gerak**

Fase gerak Kloroform : Aseton ( 4:1) diambil masing-masing 20 ml dan 5 ml, dimasukkan ke dalam *chamber*, kemudian dijenuhkan dengan tempelkan kertas saring pada sisi *chamber*

kromatografi, tutup rapat chamber dan chamber yang sudah jenuh ditandai dengan kertas saring basah seluruhnya (Chamidah, 2021).

d. Persiapan Fase Diam

Disiapkan plat silika gel GF254 dengan ukuran 5 x 10 cm, kemudian diberi garis batas atas dan bawah 1 cm pada plat dengan jarak penotolan 1 cm, dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 100°C selama 5 menit. Fase gerak Kloroform : Aseton (4:1) dimasukkan *chamber* (Chamidah, 2021). Ditotolkan sampel ke plat KLT dengan pipa kapiler, kemudian dimasukkan plat KLT ke dalam *chamber* yang sudah jenuh, ditunggu hingga fase gerak bergerak sampai garis batas atas pada plat KLT, kemudian diangkat plat KLT dan dikeringkan. Diamati noda yang muncul pada plat KLT dibawah sinar UV 254 (Nadalia, 2021). Hitung nilai Rf yang diperoleh dari masing-masing sampel. Nilai Rf dihitung dengan rumus:

$$R_f = \frac{\text{Jarak rambat sampel/baku}}{\text{Jarak rambat fase gerak}}$$

Sampel yang positif ditandai dengan terdapatnya bercak yang sama dengan baku pembanding deksametason dan memiliki nilai Rf 0,25 (Permadi, 2018).

### 3.3.3. Analisis Kuantitatif Deksametason Dengan Uji Spektrofotomer UV-Vis

a. Pembuatan Larutan Baku Deksametason

Baku pembanding deksametason sebanyak 50 mg dimasukan ke dalam labu ukur 50 ml, dilarutkan dengan metanol, dikocok perlahan hingga larut, kemudian ditambahkan metanol sampai garis tanda pada labu ukur dan diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan ini kemudian di pipet sebanyak 5 ml, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, ditambahkan metanol sampai tanda batas labu ukur dan didapatkan larutan dengan konsentrasi 100 ppm (Ryansyah, 2022).

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Dengan Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Larutan baku 100 ppm dipipet sebanyak 5 ml, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, ditambahkan metanol sampai tanda batas labu ukur dan didapatkan larutan dengan konsentrasi 10 ppm. Larutan ini kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang antara 200-400 nm (Ryansyah, 2022).

c. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Dibuat larutan baku deksametason dengan konsentrasi 5 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 13 ppm, 15 ppm diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Ryansyah, 2022).

d. Pembuatan Larutan Sampel Jamu

Sampel jamu pegal linu yang diperoleh masing-masing ditimbang 300 mg. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml, ditambahkan metanol sampai tanda batas. Larutan kemudian di saring dan di pipet sebanyak 5 ml filtrat pertama (Larutan I). Larutan I dipipet 0,5 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml. Kemudian diencerkan dengan metanol sampai tanda batas, kemudian dimasukkan ke dalam botol kaca gelap (Ryansyah, 2022).

e. Analisis Larutan Sampel Jamu

Analisis kualitatif dilakukan dengan mengukur serapan larutan uji pada panjang gelombang 239 nm untuk mengetahui panjang gelombang maksimumnya. Selanjutnya analisis kuantitatif dilakukan dengan mengukur serapan larutan uji pada panjang gelombang maksimum dari larutan baku deksametason (Ryansyah, 2022).

### 3.4. Analisis data

#### 3.4.1 Analisis Data Kromatografi Lapis Tipis

Hasil dinyatakan positif bila warna bercak antara sampel dan baku sama dan nilai Rf antara sampel dengan baku sama atau saling

mendekati dengan selisih nilai  $\leq 0,2$  (Samosir, 2018).

Dan jika terdapat bercak berwarna ungu sama atau hampir sama maka sampel dinyatakan positif mengandung bahan kimia obat deksametason karena kemungkinan memiliki karakteristik yang sama atau mirip. Bila nilai Rf larutan sampel tidak mendekati nilai Rf larutan pembanding dan kedua warna bercak tidak sama maka sampel jamu yang diteliti tidak mengandung deksametason (Purwatiningsih, dkk 2021).

Perhitungan Rf dengan rumus yaitu :

$$Rf = \frac{\text{Jarak rambat sampel/baku}}{\text{Jarak rambat fase gerak}}$$

Data analisis kualitatif digambarkan pada tabel yang meliputi perubahan warna (ungu), tinggi bercak (cm), jarak rambat (cm), nilai Rf. Pengamatan dengan tanda (+) atau (-).

**Tabel 3. 1** Hasil analisis kualitatif Deksametason secara KLT

No.	Baku dan Sampel	Nilai Rf	Hasil
1.	Sampel X		
2.	Sampel Y		
3.	Sampel Z		
4.	<b>Baku (W)</b>		

Keterangan :

(+) Mengandung BKO Deksametason

(-) Tidak mengandung BKO Deksametason

### 3.4.2 Analisis Data Spektrofotometer UV-Vis

Menurut farmakope Indonesia (FI) edisi IV panjang gelombang maksimum deksametason yaitu 239 nm berbeda tidak lebih dari 3,0%. Pengukuran konsentrasi larutan baku pembanding Deksametason yang kemudian dari data tersebut didapatkan persamaan regresi linear. Nilai linearitas yang baik yaitu mendekati nilai 1 karena menggambarkan

adanya korelasi linear antara data absorbansi dengan konsentrasi analit dalam sampel (Putra, 2020). yaitu:

$$y = bx + a$$

Ket :

y= Serapan

b = Koefisien regresi

x= Konsentrasi (ppm)

a= Konstanta

Yang selanjutnya dapat dihitung juga penetapan kadar menggunakan rumus :

$$\% \text{ b/b} = \frac{\text{Berat BKO (mg)}}{\text{Bobot sampel (mg)}} \times 100\%$$

**Tabel 3. 2** Hasil analisis kuantitatif Deksmetason secara Spektrofotometer UV-Vis

No.	Larutan Baku	Konsentrasi x (ppm)	Abs (y)
1.	Larutan baku I		
2.	Larutan baku II		
3.	Larutan baku III		
4.	Larutan baku IV		
5.	Larutan baku V		