

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah ekperimental. Variabel penelitian ini adalah kandungan parasetamol pada jamu pegal linu. Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2023 sampai Juni 2024. Penelitian uji kualitatif Kromatografi Lapis Tipis dilakukan di Laboratorium Kimia Kampus 2 Universitas Muhammadiyah Gresik Jl. Proklamasi No.54 Gresik, 61111. Dan untuk uji kuantitatif Spektrofotometri UV-Vis dilakukan di Laboratorium Kimia Kampus 1 Universitas Muhammadiyah Gresik Jl. Sumatera No. 101 GKB Gresik , 61121.

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

Bahan yang digunakan yaitu : 4 sampel jamu pegal linu dengan merk A, B, C, D, Parasetamol, etanol 96%, kloroform, aquadest, etil asetat. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan analitik (Centarus Scale), kertas perkamen, erlemneyer 100ml (Herma), beaker glass 50 (Herma). gelas ukur 5ml, 10ml (Herma), kertas saring, corong, water bath (Thermostat Water Bath HH-6), chamber, plat KLT silika GF<sub>254</sub>, labu ukur 100ml (Herma), pipet tetes, batang pengaduk, lampu UV 254nm, spatel logam, hot plate stirrer, magnetic stirrer, spektrofotometer UV-Vis, pipet kapiler, cawan porselen, aluminium foil, oven (Kirin).

#### **3.3 Metode Penelitian**

Pada penelitian ini populasi yang digunakan adalah semua sediaan jamu instan pegal linu yang dijual di Pasar Tradisional X. Sedangkan sampel pada penelitian ini yang paling banyak terjual dan tidak bermerk. Penelitian kali ini menggunakan teknik pengambilan sampel yaitu *purposive sampling* yang merupakan cara pengambilan sampel yang ditargetkan oleh seorang peneliti dengan karakteristik sampel dalam suatu penelitian (Dana p. Turner, 2020). Adapun total populasi yang didapatkan sebanyak 7 sampel jamu pegal linu yang dijual di pasar

tradisional. Besar sampel dihitung dengan menggunakan rumus n-plan, sebagai berikut :

$$\begin{aligned} &= \sqrt{n} + 1 \\ &= \sqrt{7} + 1 \\ &= 3,6 \\ &= 4 \text{ sampel} \end{aligned}$$

Keterangan :

Jadi, sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 4 jenis sediaan jamu pegal linu yang tidak bermerek dan dibeli ditempat yang berbeda dan diberi kode A, B, C, D

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Analisis Kualitatif Parasetamol Dengan Uji Kromatografi Lapis Tipis

##### a. Pembuatan Larutan Uji

Sampel jamu pegal linu ditimbang sebanyak  $\pm 500$  mg. dimasukkan ke dalam Beaker glass, ditambahkan 10 ml etanol 96%. Diaduk selama 30 menit kemudian disaring. Ekstrak diuapkan diatas water bath sampai kering. Sisa penguapan dilarutkan dalam 5 ml etanol 96% (Indriadmoko *et al.*, 2019).

##### b. Pembuatan Pembanding Parasetamol

Gerus parasetamol dengan mortal dan alu, ditimbang sebanyak 50 mg lalu ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 10 ml, aduk hingga homogen kemudian disaring (Kamar dkk. 2021).

##### c. Pembuatan Fase Gerak

Diukur 9 ml etil asetat dan 1 ml kloroform untuk membuat fase gerak dengan perbandingan 9:1, lalu dimasukkan etil asetat dan kloroform kedalam chamber hingga jenuh (Kamar dkk. 2021).

##### d. Pembuatan Fase Diam

Plat KLT diaktifkan dengan cara pemanasan pada oven selama 30 menit pada suhu 120°C, kemudian diberi garis dengan pensil dengan jarak

1 cm dari tepi atas dan 1 cm dari tepi bawah. Skala masing – masing untuk tempat penotolan larutan uji adalah 1 cm (Indriadmoko *et al.*, 2019).

e. Uji Kromatografi Lapis Tipis

Totolkan larutan sampel uji dan larutan sampel parasetamol pada plat KLT yang sama, masukkan plat KLT pada bejana kromatografi yang telah diisi larutan pengemban (eluen), amati titik noda pada plat KLT, hitung nilai Rf dan bandingkan nilai Rf dengan nilai Rf baku standar Bahan Kimia Obat (BKO) (Kamar dkk. 2021).

### 3.4.2 Analisis Kuantitatif Parasetamol Dengan Spektrofotometer UV-Vis

a. Pembuatan Larutan Baku Induk

Baku pembandingan parasetamol ditimbang seksama 100 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, dilarutkan dengan etanol 96 % hingga tanda batas sehingga terbentuk larutan parasetamol 1000 ppm. Sebanyak 10 ml larutan parasetamol 1000 ppm dipipet ke dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan etanol 96 % sampai tanda batas sehingga didapatkan larutan parasetamol 100 ppm yang akan dijadikan larutan stok (Muamanah *et al.*, 2023).

b. Pembuatan Larutan Uji

Sampel jamu pegal linu ditimbang sebanyak  $\pm 500$  mg. Dimasukkan ke dalam Beaker glass, ditambahkan 10 ml etanol 96%, diaduk selama 30 menit kemudian disaring. Ekstak diuapkan di atas water bath sampai kering, dilarutkan dengan 5 ml etanol 96% (Indriadmoko *et al.*, 2019).

c. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 2 mL larutan stok parasetamol dipipet ke dalam labu ukur 100 mL, dan ditambahkan pelarut etanol 96% sampai tanda batas. Larutan yang terbentuk adalah larutan parasetamol 2 ppm. Larutan ini diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-400 nm untuk mengetahui panjang gelombang maksimum (Muamanah *et al.*, 2023).

d. Penentuan Kurva

Larutan standar parasetamol dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Nilai absorbansi yang diperoleh selanjutnya dibuat kurva baku dengan sumbu x adalah konsentrasi dan sumbu y adalah absorbansi (Muamanah *et al.*, 2023).

e. Pengukuran Larutan Uji

Larutan uji diukur serapannya pada Panjang gelombang maksimum, lalu kadar dalam sampel dihitung berdasarkan persamaan garis regresinya (Indriadmoko *et al.*, 2019).

### 3.5 Analisis Data

Harga Rf larutan uji dan larutan baku parasetamol jika sama atau mendekati dan warna kedua bercak sama, maka sampel tersebut mengandung Bahan Kimia Obat (BKO) yaitu parasetamol. Standar larutan baku parasetamol memiliki nilai Rf parasetamol adalah 0,75 (Indriadmoko *et al.*, 2019; Rahmadani & Alawiyah., 2021). Bila harga Rf larutan uji tidak mendekati harga Rf larutan pembanding dan kedua warna bercak tidak sama maka sampel jamu yang diteliti tidak mengandung parasetamol. Perhitungan Rf didasarkan atas rumus yaitu (Maharianingsih, Ni Made 2022).

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

Data dari analisis kualitatif digambarkan pada tabel yang meliputi harga Rf. Pengamatan dengan tanda (+) atau (-).

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

No	Baku dan Sampel	Nilai Rf	Hasil
1	Baku parasetamol		
2	A		
3	B		

4	C
5	D

Keterangan :

- (+) Mengandung BKO Parasetamol
- (-) Tidak Mengandung BKO Parasetamol

Selanjutnya dilakukan uji penentuan kadar yang dilakukan secara kuantitatif dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Panjang gelombang maksimum parasetamol dapat diukur pada rentang gelombang 200 – 400 nm (Muamanah *et al.*, 2023). Penentuan kadar parasetamol di hitung menggunakan persamaan linier regristrasi dan harga r (koefisien korelasi). Nilai koefisien korelasi yang diinginkan mendekati 1 atau sama dengan 1 (Muamanah *et al.*, 2023).

$$y = bx + a$$

Dimana :

- y = serapan
- x = konsentrasi (ppm)
- a = konstanta
- b = koefisien ( slope/kemiringan)

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 Penentuan Kurva Standar Parasetamol

No	Konsentrasi X (ppm)	Abs (y)
1.		
2.		
3.		
4.		