

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini yakni penelitian eksperimental. Penelitian eksperimental merupakan penelitian yang biasanya dilaksanakan di laboratorium. Variabel penelitian ini adalah kandungan bahan kimia obat natrium diklofenak dalam sediaan jamu sakit pinggang. Waktu penelitian ini dilakukan pada bulan November 2023 sampai bulan Juni 2024, waktu pengambilan data dilakukan pada bulan Januari 2024. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Muhammadiyah Gresik.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sinar UV 254 nm, chamber, kaca penutup, batang pengaduk, kertas saring (*Whatman 40*), plat KLT silica gel F 254 nm (*Merck and Germany*), beaker glass 100 mL (*Herma*), gelas ukur 50 mL (*Herma*), gelas ukur 10mL (*Herma*), gelas ukur 5mL (*Herma*), timbangan analitik (*Centarus Scale*), penangas air (*Thermostat Water Bath HH-6*), mikroskop, Oven (*Kirin*) kaca preparat, cawan porselen, aluminium foil, pipa kapiler, pipet tetes dan erlenmeyer 50 mL (*PyRex*).

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan adalah standar natrium diklofenak, asam asetat glasial grade p.a, etil asetat grade p.a, toluene grade p.a, etanol grade p.a 96%, aquadest, kloral hydrate grade p.a, dan sampel Jamu Sakit Pinggang tidak bermerek yang dijual ditoko X.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Uji Pendahuluan

Uji Pendahuluan ini berupa uji mikroskopik yang dilakukan untuk mendapatkan gambaran simplisia yang terdapat dalam komposisi jamu sakit pinggang tidak bermerek yang dijual ditoko X. Uji ini sebagai uji pendahuluan dan dilanjutkan dengan uji kromatografi lapis tipis. Ditimbang

sampel jamu sakit pinggang 5 mg, kemudian diletakkan diatas kaca preparat, diberi pelarut chloral hydrate, lalu ditutup dengan objek glass, dan diamati dengan menggunakan mikroskop (Kamar *et al.*, 2021). Diamati bagian dari penyusun jamu dengan berpedoman pada MMI dan FHI (Rahmatullah *et al.*, 2018).

3.3.2 Preparasi Sampel

Ditimbang 500 mg sampel jamu sakit pinggang, dimasukkan ke dalam beaker glass 50 ml, ditambahkan 10 ml etanol 96%, lalu saring dengan kertas saring. (Pambajeng dan Susilowati, 2023).

3.3.3 Pembuatan Pembanding Natrium Diklofenak

Ditimbang Standar Natrium Diklofenak sebanyak 50 mg lalu ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 10 ml, aduk hingga homogen (Kamar *et al.*, 2021).

3.3.4 Pembuatan Fase Gerak

Diukur 1 ml asam asetat glasial , 40 ml etil asetat, dan 60 ml toluena untuk membuat fase gerak dengan perbandingan 1:40:60 dengan volume eluen yang dibutuhkan 100 ml, lalu masukkan asam asetat glasial , etil asetat dan toluena kedalam chamber tunggu hingga jenuh (Pambajeng dan Susilowati, 2023).

3.3.5 Uji KLT

Diambil plat KLT dipotong dengan ukuran tinggi 10 cm dan lebar 5 cm, sebelum plat KLT digunakan, dioven terlebih dahulu selama 30 menit dengan suhu 110° C (Marjoni, 2016). Sampel jamu sakit pinggang dan natrium diklofenak ditotolkan pada silica gel F 254nm yang sama dengan jarak 1 cm, dimasukkan plat KLT 254nm pada bejana/chamber kromatografi yang telah berisi larutan pengembang (eluen), amati titik noda pada plat KLT 254nm, lalu dengan penampakan bercak pada sinar UV 254 nm. Dalam analisis menggunakan KLT, hasil sampel dikatakan positif apabila terdapat selisih nilai Rf sampel dengan nilai Rf standar < 0,2 (Tahir, *et al.*, 2018).

Bila nilai Rf larutan Uji dan larutan baku natrium diklofenak positif atau mendekati dengan nilai standarnya, berarti sampel tersebut mengandung bahan kimia obat (BKO) yaitu natrium diklofenak. Perhitungan nilai Rf didasarkan atas rumus:

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

Nilai Rf dinyatakan hingga angka 1,0. Nilai Rf yang baik menunjukkan pemisahan yang cukup baik adalah berkisar antara 0,2-0,8 (Roni dan Minarsih, 2021).

3.4 Analisis Data

3.4.1 Uji Mikroskopik

Analisis uji mikroskopik ini dilakukan untuk mendapatkan gambaran simplisia yang terdapat dalam komposisi jamu sakit pinggang yang dijual ditoko X. Uji ini sebagai uji pendahuluan dan dilanjutkan dengan uji kromatografi lapis tipis. Dengan menentukan komponen bahan alam yang terdapat dalam komposisi jamu secara mikroskopik. Pemeriksaan mikroskopik dilakukan terhadap serbuk simplisia yang menunjukkan fragmen pengenalan seperti hablur kalsium oksalat, epidermis, parenkim, xilem, dan floem. Diamati dengan berpedoman atau literatur dari MMI atau FHI.

Tabel 3. 1 Hasil Uji Mikroskopik

Fragmen	Hasil	Literatur

Sumber: Shalsyabillah, F., dan Sari, K. 2023

3.4.2 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis uji ini diamati berdasarkan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan nilai Rf dan warna dari bercak noda. Nilai Rf dan warna bercak noda yang telah dihasilkan dibandingkan dengan nilai Rf serta warna noda dari standar Natrium Diklofenak. Sehingga dapat disimpulkan ada atau tidaknya Bahan Kimia Obat (BKO) Natrium Diklofenak dalam sampel jamu sakit pinggang yang tidak bermerek dijual di Toko X.

Tabel 3. 2 Hasil Uji KLT

No.	Sampel	Jarak yang ditempuh pelarut	Jarak yang ditempuh eluen	Nilai Rf
1	Natrium Diklofenak			
2	Jamu Sakit Pinggan Tidak Bermerek			

Sumber: Rahamatullah, *et al.*, 2022

