

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah deskriptif kualitatif. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis atau mengidentifikasi adanya Bahan Kimia Obat (BKO) Fenilbutazon pada sampel jamu pegal linu merek merk W, X, Y, dan Z. Metode yang digunakan adalah Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Tahap pertama adalah tahapan penelitian yang akan dilakukan tahapan persiapan yaitu persiapan alat dan bahan serta melakukan persiapan empat merk sampel jamu pegal linu W, X, Y, dan Z yang berada disekitar toko jamu pasar besar.

Tahap kedua adalah tahapan pelaksanaan yaitu meliputi identifikasi fenilbutazon, pembuatan larutan standart fenilbutazon, tahapan preparasi sampel yaitu ekstraksi sampel, ekstraksi standar fenilbutazon dan tahapan analisis kualitatif dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Tahap akhir penelitian yaitu dengan menganalisa data penelitiann yang telah dilakukan serta membuat kesimpulan hasil penelitian sampel jamu pegal linu merk W, X, Y, dan Z yang diduga mengandung Bahan Kimia Obat Fenilbutazon.

3.2. Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah suatu populasi jamu pegal linu sediaan serbuk dengan merk tertentu di toko jamu sekitar pasar besar, yang paling diminati masyarakat dan harga yang murah.

3.2.1 Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik sampling purposive yaitu teknik penentuan sampel dengan pertimbangan tertentu, salah satunya dengan melihat ada atau tidaknya nomor registrasi pada kemasan jamu pegal linu. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah empat jamu pegal linu sediaan serbuk dengan berbeda merk yaitu W, X, Y dan Z yang tidak terdaftar di BPOM.

3.3. Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi Penelitian

Pada pengujian kualitatif dan kuantitatif kandungan fenilbutazon dalam jamu pegal linu di Laboratorium Akademi Analisis Farmasi dan Makanan Putra Indonesia Malang.

3.3.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan mulai penyusunan proposal bulan Februari sampai Mei 2019.

3.4. Definisi Operasional Variabel

Pada penelitian ini terdapat variabel pengujian kandungan Bahan Kimia Obat fenilbutazon pada jamu pegal linu merk W, X, Y, dan Z.

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Hasil Ukur	Alat Ukur	Skala Ukur
Pengujian kandungan fenilbutazon pada jamu pegal linu merk W, X, Y, Z.	Pemisahan bahan kimia obat fenilbutazon yang menggunakan metode KLT.	Bercak noda dan nilai Rf dari hasil pemisahan setelah proses eluasi selesai.	Kromatografi Lapis Tipis.	Nominal

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah Neraca digital, chamber, pinset, botol timbang, pH universal, gelas ukur 100 mL, mikro pipet, tip mikropipet, gelas ukur 10 mL, gelas ukur 100 mL, kaki tiga, kasa asbes, lampu spiritus, corong pisah, klem, statif, *beaker glass* 100 mL, botol semprot, sendok tanduk, batang pengaduk, oven, seperangkat alat soxhlet, tabung reaksi, pipet tetes, labu ukur 5 mL, cawan penguap, corong *buchner*.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah plat KLT, kertas saring, sampel jamu pegal linu merk W, X, Y dan Z, aquadest, tablet fenilbutazon, NaOH 1 N, HCl 1 N, klorofom, etanol, aseton, HNO₃, Diazo A dan B.

1.6 Prosedur Penelitian

1.6.1 Preparasi Pemurnian Tablet Fenilbutazon

1. Menimbang tablet fenilbutazon sebanyak 10 gram tablet
2. Memasukkan ke dalam timbel yang telah ditimbang

3. Memasukkan kedalam tabung soxlet
4. Memasukkan pelarut etanol sebanyak 180 ml
5. Melakukan proses soxletasi sampai pelarut menjadi jernih

1.6.2 Identifikasi Fenilbutazon

3.6.2.1 Identifikasi dengan reagen HNO₃

1. Mengambil seujung sendok tanduk fenilbutazon dimasukkan dalam tabung reaksi
2. Meneteskan HNO₃ sebanyak 3- 5 tetes
3. Mengamati perubahan warna (Larutan Kuning +)

3.6.2.2 Identifikasi dengan reagen Diazo A dan B

1. Mengambil seujung sendok tanduk fenilbutazon dimasukkan dalam tabung reaksi
2. Meneteskan diazo sebanyak 3- 5 tetes (larutan kuning)
3. Kemudian dipanaskan, mengamati perubahan warna (larutan coklat muda +)

3.6.3 Pembuatan Larutan Standar Fenilbutazon

1. Menimbang standart Fenilbutazon sebanyak 10 mg
2. Memasukkan ke dalam labu ukur 5 ml
3. Melarutkan dan diencerkan dengan etanol (Larutan A)

3.6.4 Preparasi Larutan Sampel

1. Sejumlah satu dosis cuplikan yang telah diserbuk halus, dimasukkan ke dalam *beaker glass* 100 mL
2. Menambahkan 50 ml aquadest dan diaduk sampai larut
3. Menambahkan NaOH 1 N hingga pH 9- 10 pada larutan lalu dikocok 30 menit
4. Menyaring larutan dengan corong *buchner*.
5. Filtrat diasamkan dengan beberapa tetes HCl 1 N hingga pH 3- 4
6. Melakukan ekstraksi filtrat 4 kali, setiap kali dengan 20 ml kloroform, dikocok didalam corong pisah.
7. Setelah memisah sempurna pisahkan bagian bawah dan atasnya.
8. Hasil ekstraksi dikumpulkan dalam cawan penguap kemudian diuapkan hingga hampir kering.
9. Sisanya dilarutkan dengan 5 ml etanol (Larutan B)

3.6.5 Pembuatan Larutan kontrol positif

1. Sejumlah satu dosis cuplikan yang telah diserbuk halus dan yang ditambahkan standar fenilbutazon, dimasukkan ke dalam *beaker glass* 100 mL
2. Menambahkan 50 ml aquadest dan diaduk sampai larut
3. Menambahkan NaOH 1 N hingga pH 9- 10 pada larutan lalu dikocok 30 menit
4. Menyaring larutan dengan corong *buchner*.
5. Filtrat diasamkan dengan beberapa tetes HCl 1 N hingga pH 3- 4

6. Melakukan ekstraksi filtrat 4 kali, setiap kali dengan 20 ml kloroform, dikocok didalam corong pisah.
7. Setelah memisah sempurna pisahkan bagian bawah dan atasnya.
8. Hasil ekstraksi dikumpulkan dalam cawan penguap kemudian diuapkan hingga hampir kering.
9. Sisanya dilarutkan dengan 5 ml etanol (Larutan C)

3.6.6 Pengujian KLT

1. Menyiapkan plat KLT dan diukur jarak rambat eluasi
2. Mengaktifkan plat KLT dengan cara dioven pada suhu 105⁰C selama 15 menit
3. Mengukur volume fase gerak yaitu kloroform : aseton dengan perbandingan (4:1), dimasukkan dalam chamber
4. Menjenuhkan eluen dengan menggunakan kertas saring
5. Memipet larutan sampel dan standar fenilbutazon dengan mikro pipet masing-masing volume penotolan 10 µL
6. Melakukan eluasi pada sampel dan standar fenilbutazon sampai mencapai jarak eluasi
7. Mengangkat plat KLT yang telah selesai eluasi, kemudian dikeringkan
8. Kemudian mengamati noda dengan penampak bercak sinar UV 254 nm
9. Menghitung nilai Rf pada bercak yang diperoleh dengan rumus sebagai berikut.

$$Rf = \frac{\text{Jarak tempuh komponen}}{\text{jarak tempuh eluen}}$$

10. Masing- masing sampel dilakukan replikasi sebanyak 3x

3.7 Analisis Data

Analisa data dalam penelitian ini akan didapatkan dari metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yaitu nilai Rf dan warna dari bercak noda. Nilai Rf dan warna bercak noda yang telah dihasilkan dibandingkan dengan nilai Rf serta warna bercak noda dari standar fenilbutazon. Nilai Rf dari sampel dilakukan menghitung rata- rata pada masing- masing yang telah direplikasi sebanyak 3x. Sehingga dapat ditarik kesimpulan ada atau tidaknya Bahan Kimia Obat (BKO) fenilbutazon pada sampel jamu pegal linu merk W, X,Y, dan Z.