

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian dengan jenis penelitian deskriptif yang diuji secara kualitatif dengan pendekatan laboratoris. Penelitian ini bertujuan memberi gambaran terhadap obyek yang akan diteliti melalui data sampel, kemudian melakukan analisis dan membuat kesimpulan secara umum. Tahapan penelitian meliputi tahapan persiapan, tahapan pelaksanaan, dan tahapan akhir. Tahapan persiapan yaitu persiapan alat, bahan dan sampel jamu pegal linu sediaan cair merk “X”. Tahapan pelaksanaan yaitu pengujian kromatografi lapis tipis. Tahapan akhir yaitu hasil pengujian mengidentifikasi bahan kimia obat yang terkandung dalam jamu pegal linu sediaan cair merk “X”.

#### **3.2 Populasi dan Sampel Penelitian**

##### **3.2.1 Populasi**

Populasi dari penelitian ini adalah jamu pegal linu sediaan cair merk “X” yang beredar di kota Probolinggo

##### **3.2.2 Sampel**

Sampel penelitian ini adalah jamu pegal linu sediaan cair merk “X” yang diambil dari toko A, B, dan C di kota Probolinggo

#### **3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian**

##### **3.3.1 Lokasi Penelitian**

Penelitian identifikasi bahan kimia obat pada jamu pegal linu sediaan cair merk “X” dilaksanakan di laboratorium kimia, laboratorium farmakognosi, dan laboratorium mikrobiologi Putra Indonesia Malang.

##### **3.3.2 Waktu penelitian**

Waktu penelitian ini dilaksanakan mulai awal penyusunan proposal bulan Januari-Mei 2019

### 3.4 Definisi Operasional Variabel

Pada penelitian ini terdapat variabel yaitu identifikasi bahan kimia obat fenilbutazon pada jamu pegal linu sediaan cair merk "X" yang beredar di kota Probolinggo

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Sub Variabel	Definisi Operasional variabel	Hasil Ukur	Alat Ukur	Skala ukur
Identifikasi BKO pada sampel jamu pegal linu cair merk "X"	Uji identifikasi fenilbutazon	Mengidentifikasi bahan kimia obat fenilbutazon menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT)	Bercak noda dan nilai Rf dari hasil pemisahan	KLT	Nominal

### 3.5 Pengumpulan Data

#### 3.5.1 Alat-alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat soxhlet, neraca digital, botol timbang, chamber dan penutup chamber, gunting, penggaris, sendok tanduk, pensil, beaker glass, batang pengaduk, plat atau lempeng KLT GF<sub>254</sub>, pinset, kertas saring, pipet mikro, waterbath, pipet volume, labu ukur 50,0 mL dan labu ukur 25,0 mL.

#### 3.5.2 Bahan-bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ethil asetat, ethanol, methanol, ammonia, aquades, HNO<sub>3</sub>, Diazo A dan B, sampel jamu pegal linu sediaan cair merk "X", dan tablet fenilbutazon.

### 3.6 Prosedur penelitian

#### 3.6.1 Proses Pemurnian Tablet Fenilbutazon

1. Ditimbang tablet fenilbutazon sebanyak 10 tablet
2. Dihancurkan perlahan agar tablet menjadi lebih kecil
3. Dimasukkan ke dalam timble
4. Dimasukkan kedalam tabung soxhlet
5. Dimasukkan pelarut etanol 180 ml atau sampai timble tenggelam
6. Dilakukan proses soxhletasi sampai pelarut menjadi jernih
7. Selanjutnya dilakukan pemekatan pada ekstrak dan dilakukan penguapan

3.6.2 Identifikasi fenilbutazon dengan reagen  $\text{HNO}_3$  (Senat Mahasiswa fakultas Farmasi Universitas Airlangga, 1987)

1. Diambil sedikit fenilbutazon dimasukkan ke dalam tabung reaksi
2. Diteteskan reagen  $\text{HNO}_3$  sebanyak 3- 5 tetes
3. Diamati perubahan warna, jika positif fenilbutazon berubah menjadi larutan kuning

3.6.3 Identifikasi dengan reagen Diazo A dan B (Senat Mahasiswa fakultas Farmasi Universitas Airlangga, 1987)

1. Diambil sedikit fenilbutazon diletakkan ke dalam tabung reaksi
2. Diteteskan diazo sebanyak 3- 5 tetes (larutan kuning)
3. Dipanaskan, diamati perubahan warna (larutan coklat muda)

3.6.4 Preparasi sampel (Kurniawan Mexi, 2018)

1. Dipipet sampel sebanyak 10,0 mL dan dimasukkan ke dalam labu 25,0 mL
2. Ditambahkan dengan metanol secukupnya kemudian dikocok
3. Ditambahkan dengan metanol sampai garis tanda pada labu kemudian dikocok hingga homogen
4. Kemudian disaring dan ditampung filtratnya, filtrat inilah yang akan ditotolkan pada lempeng KLT

3.6.5 Pembuatan larutan kontrol positif (D. Anggraini & M. Sholika, 2016)

1. Dipipet sampel sebanyak 10,0 mL dan ditambah standar fenilbutazon sebanyak 50,0 mg lalu dimasukkan ke dalam labu 25,0 mL
2. Ditambahkan dengan metanol secukupnya kemudian dikocok
3. Ditambahkan dengan metanol sampai garis tanda pada labu kemudian dikocok hingga homogen
4. Kemudian disaring dan ditampung filtratnya, filtrat inilah yang akan ditotolkan pada lempeng KLT

3.6.6 Prosedur pengujian kromatografi lapis tipis (D. Anggraini & M. Sholika, 2016)

1. Diukur kertas saring sebesar wadah chamber, lalu masukkan kertas saring ke dalam chamber.
2. Buat eluen dengan dengan perbandingan etil asetat : methanol : ammonia (85:10:5), lalu dimasukkan ke dalam chamber. Masukkan kertas saring dan dibiarkan hingga jenuh.
3. Membuat standar yaitu fenilbutazon dengan menimbang sebanyak 50 mg dan dilarutkan dengan metanol 50 ml

4. Menyiapkan plat KLT dengan membuat garis batas atas 0,5cm dan batas bawah 1,5 cm. Lalu plat KLT diaktifkan dengan cara dioven pada suhu 105<sup>0</sup>C selama 15 menit
5. Lalu larutan standar, kontrol positif dan sampel ditotolkan pada plat lapis tipis dengan volume 10 µl
6. Dimasukkan plat KLT ke dalam chamber yang telah berisi fase gerak untuk dilakukan eluasi hingga mencapai jarak eluasi
7. Diangkat dan dikeringkan plat KLT yang telah selesai dieluasi
8. Lalu diamati penampakan bercak hasil eluasi dibawah sinar UV 254 nm
9. Dihitung nilai Rf yang dihasilkan dengan rumus berikut :

$$Rf = \frac{\text{Jarak perjalanan analit}}{\text{Jarak perjalanan fase gerak}}$$

### 3.7 Analisis data

Analisis data yang dilakukan pada penelitian ini adalah jenis penelitian deskriptif yang diuji secara kualitatif. Hasil data penelitian ini didapatkan dengan metode kromatografi lapis tipis meliputi warna bercak noda dan nilai Rf. Data yang diperoleh dari hasil pengujian sampel dideskripsikan secara jelas, sehingga didapatkan hasil ada atau tidaknya bahan kimia obat fenilbutazon yang terkandung pada sampel jamu pegal linu sediaan cair bermerk "X" yang beredar di kota Probolinggo.