

BAB III

METODE PENELITIAN

1.1 Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui metode eksperimental untuk mengetahui adanya terdapat Bahan Kimia Obat (BKO) Paracetamol pada jamu pegal linu yang dijual di toko jamu dikawasan Ungaran.

1.2 Analisis Kualitatif

Analisis kualitatif erat hubungannya dengan identifikasi zat-zat kimia yakni dengan meneliti unsur atau senyawa yang terkandung pada suatu sampel. Analisis ini terlebih dahulu dilakukan untuk mengidentifikasi suatu senyawa (R.A. DAY *et al.*, 2002).

Cara yang digunakan untuk metode analisis kualitatif yakni dengan cara modern yang meliputi KLT identifikasi ini melihat nilai R_f yang dihasilkan oleh senyawa yang diteliti (Wulandari, 2011). Cara modern lainnya dengan menggunakan instrumen seperti spektrofotometer UV-Vis dan parameter yang diamati adalah panjang gelombang maksimum dan bentuk spektrum senyawa yang diamati (Fauzi, 2017).

1.3 Lokasi Penelitian

Sampel didapatkan dari beberapa toko jamu di kawasan Ungaran Kabupaten Semarang dan diuji di Laboratorium kimia Universitas Ngudi Waluyo.

1.4 Subjek Penelitian

1.4.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah jamu yang berkhasiat sebagai pereda nyeri yang dijual di beberapa toko jamu yang terdapat di kawasan Ungaran Kabupaten Semarang.

1.4.2 Sampel

Penentuan jumlah sampel pada penelitian ini dengan teknik non probability sampling dengan cara purposive sampling, untuk mendapatkan sampel digunakan kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah produk jamu pereda nyeri serbuk bermerk (memiliki nama, logo dan kemasan) dan produk yang sering dikonsumsi masyarakat. Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah produk yang sudah dianalisis sebelumnya terkait kandungan bahan kimia obat dalam produk jamu tersebut. Dari kriteria tersebut maka didapatkan 6 produk jamu pegal linu serbuk dan bermerk yang menjadi sampel dalam penelitian ini.

1.5 Alat dan Bahan

Alat

Alat- Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi chamber, neraca analitik (OHAUS), erlemeyer (pyrex) 10 mL, 100 mL, beaker glass (pyrex) 10 mL, 100 mL, pipet tetes, pipet ukur (1 mL, 10 mL), mikropipet 10-100 μ L (Swiss Acura 826), pipa kapiler, Oven (Marmert), lempeng KLT, Lampu UV

254 nm, Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1800), kertas saring Whatman No.1

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah 6 sampel jamu pegal linu yang beredar di kawasan Ungaran Kabupaten Semarang, Bahan Kimia Obat yang digunakan yaitu Paracetamol BPF (PT.Brataco), pelarut etanol PA (Emsure-Germany), Aquadest, Fase gerak yang digunakan yaitu Etil Asetat : Methanol : Amoniak (85:10:5) dan fase diam silica gel GF 254.

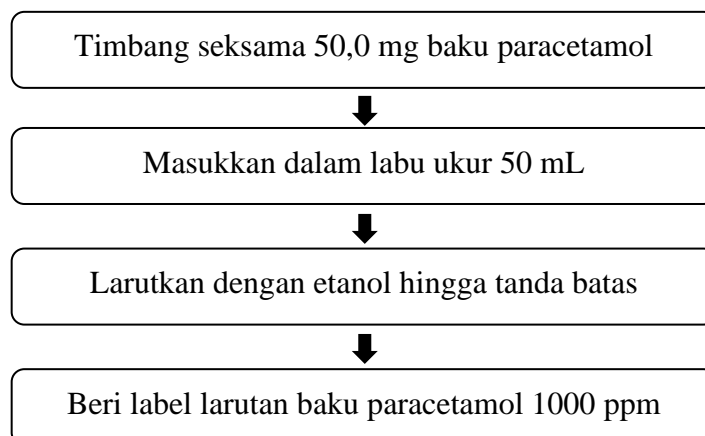
1.6 Prosedur Kerja

Uji Kualitatif dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis.

1.6.1 Pembuatan Larutan Baku Paracetamol

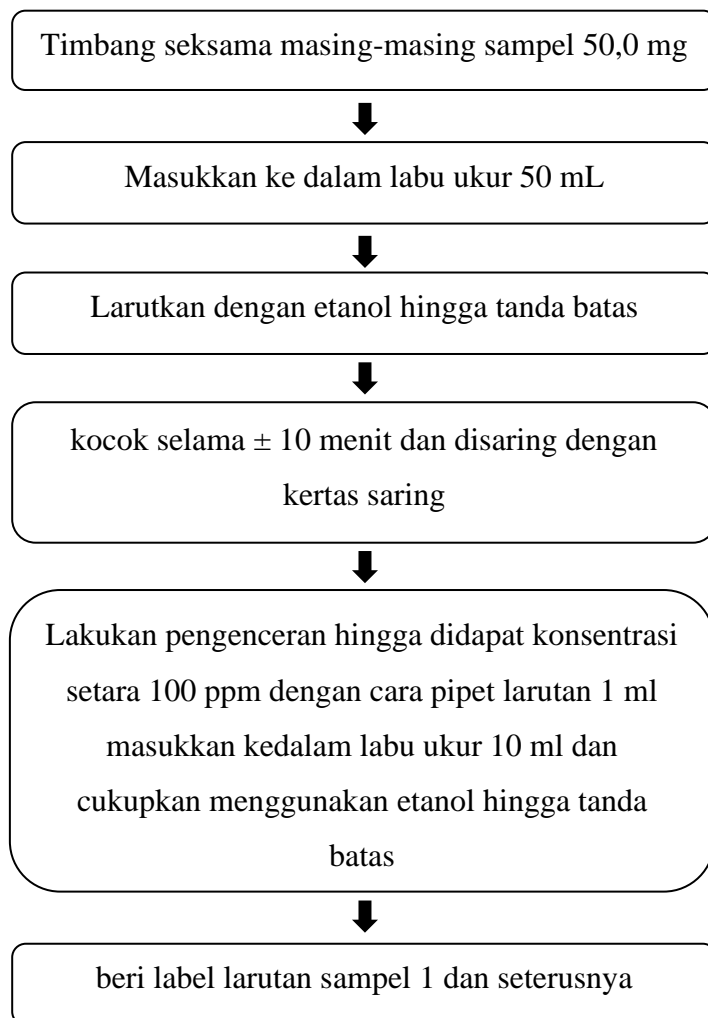
Pembuatan larutan baku 1000 ppm paracetamol 0,1 % b/v dalam etanol berdasarkan jurnal penelitian Dimas et al (2019) yang telah dimodifikasi.

Baku pembanding paracetamol ditimbang seksama 50,0 mg. dimasukkan kedalam labu ukur dilarutkan dengan etanol hingga tanda batas kemudian dihomogenkan.



1.6.2 Pembuatan Larutan sampel.

Timbang 50,0 mg tiap sampel jamu, dilarutkan dengan etanol masukkan ke dalam labu ukur 50 mL. kemudian dikocok selama ± 10 menit. Lakukan hal yang sama dengan sampel jamu yang lainnya. Lalu saring larutan dengan kertas saring dan sampel siap dilakukan penotolan. (D. I. Dimas *et al.*, 2019).

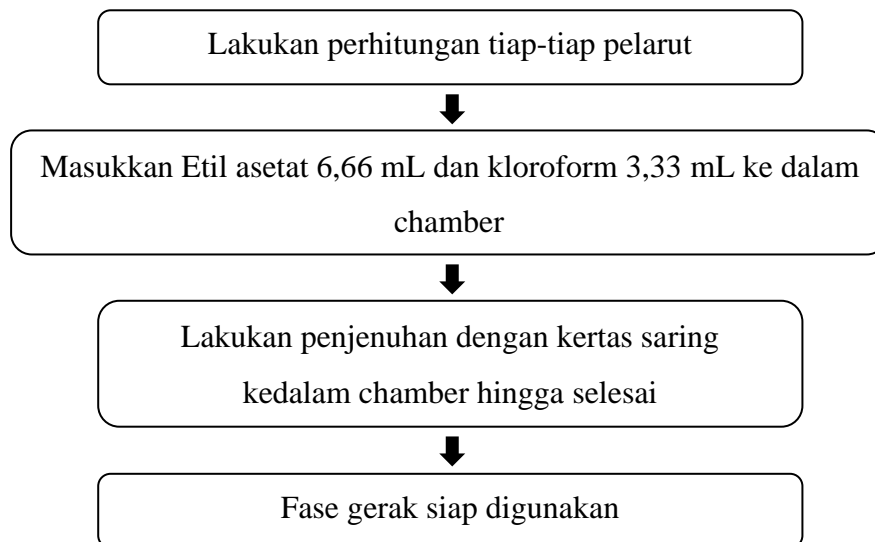


1.6.3 Pembuatan fase gerak (eluen)

Orientasi dilakukan dengan membuat 2 macam campuran pelarut yaitu campuran 2 pelarut antara Etil Asetat : Kloroform dengan perbandingan (2:1) serta campuran 3 pelarut antara Etil Asetat : Metanol : Amoniak dengan perbandingan (85:10:5) kedua fase gerak dibandingkan untuk dipilih yang terbaik.

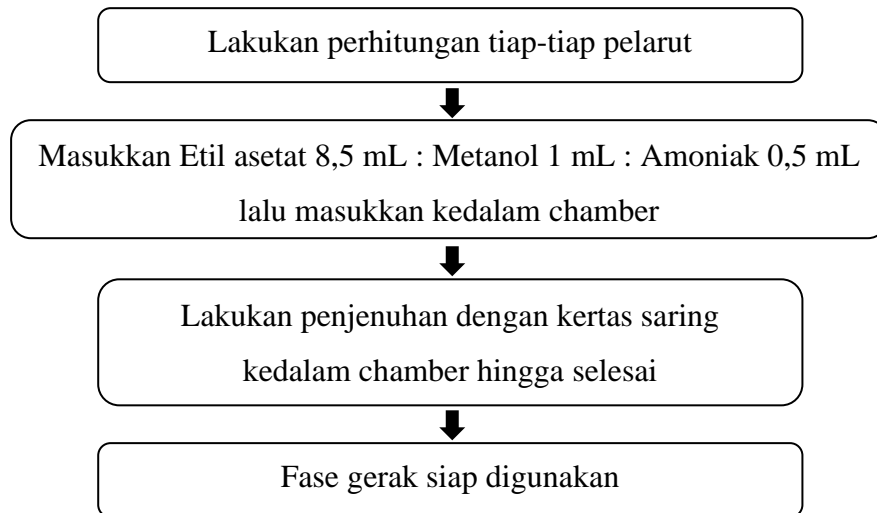
Fase gerak I

Etil Asetat : Kloroform (2:1) (Rollando, Erizcha D E, 2019)



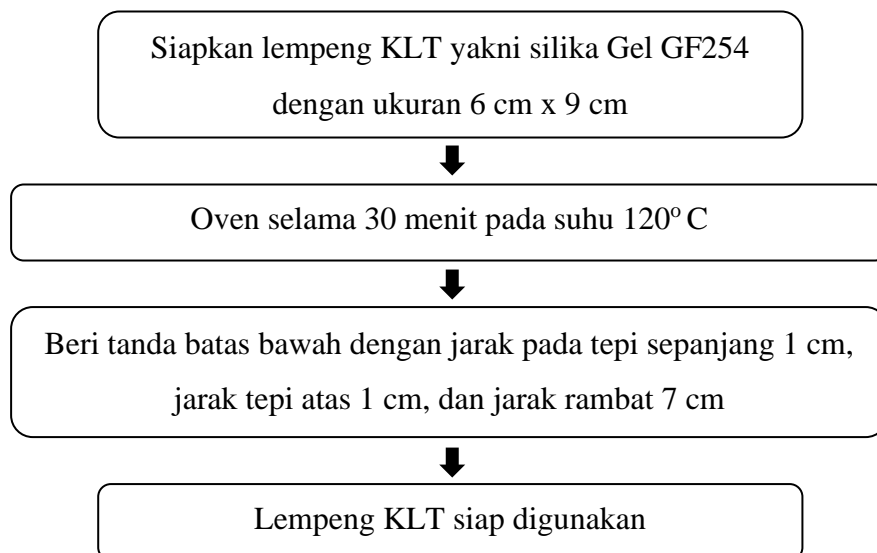
Fase gerak II

Etil Asetat : Metanol : Amoniak (85:10:5) (D. I. Dimas *et al.*, 2019).



1.6.4 Pembuatan Fase Diam

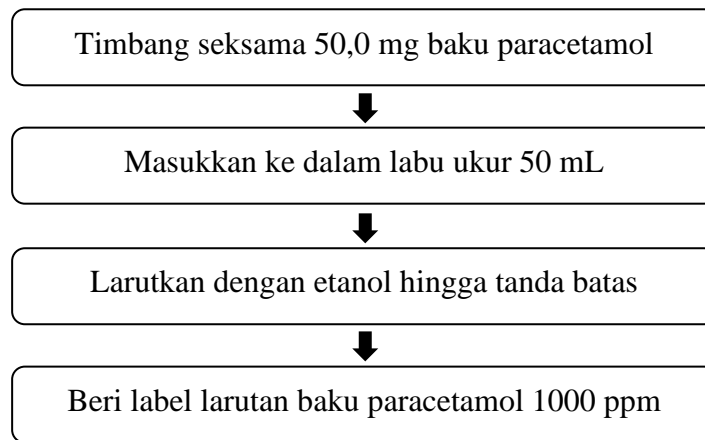
Lempeng KLT diaktifkan dengan pemanasan pada Oven selama 30 menit pada suhu 120° C, diberi garis batas pada bagian atas dan bawah, jarak tepi bawah 1 cm dan jarak tepi atas 0,5 cm dengan jarak rambat 7 cm (D. I. Dimas *et al.*, 2019)



Analisa Kuantitatif Paracetamol dengan Spektrofotometer UV

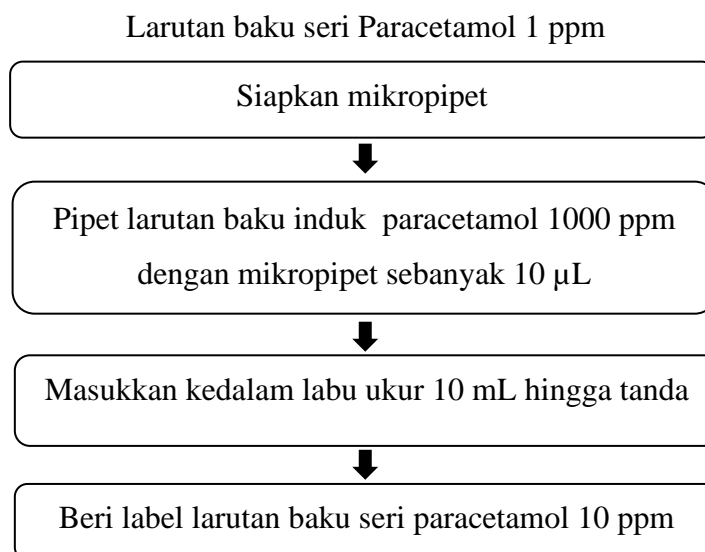
1.6.5 Pembuatan Larutan Baku Induk

Baku Paracetamol ditimbang seksama 50,0 mg, larutkan dengan etanol dalam labu ukur hingga volume tepat 50,0 mL (1000 ppm) pembuatan baku induk paracetamol ini berdasarkan jurnal D. I. Dimas et al (2019) dengan sedikit penyesuaian.

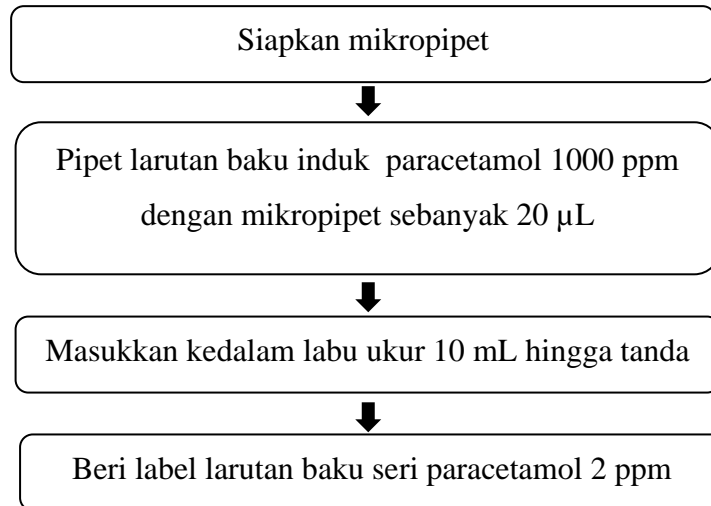


1.6.6 Pembuatan larutan Baku Seri

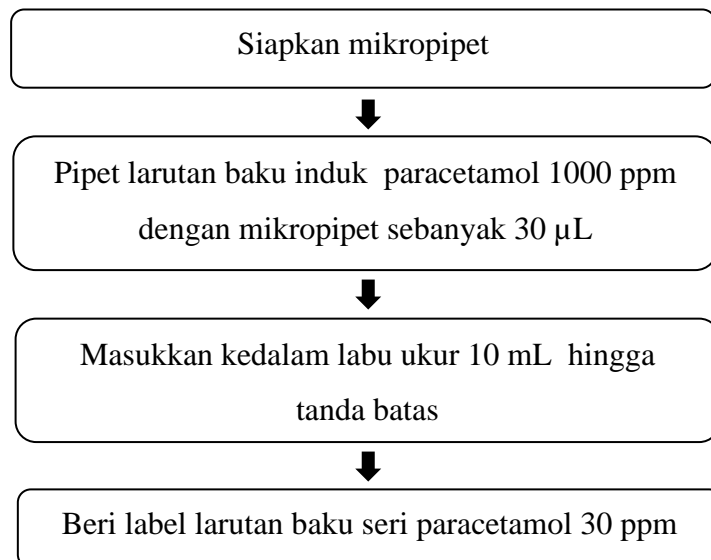
Larutan baku seri dibuat dengan konsentrasi 1 ; 2 ; 3 ; 4 ; dan 5 ppm dari pengenceran larutan baku induk (D. I. Dimas *et al.*, 2019) yang telah dimodifikasi.



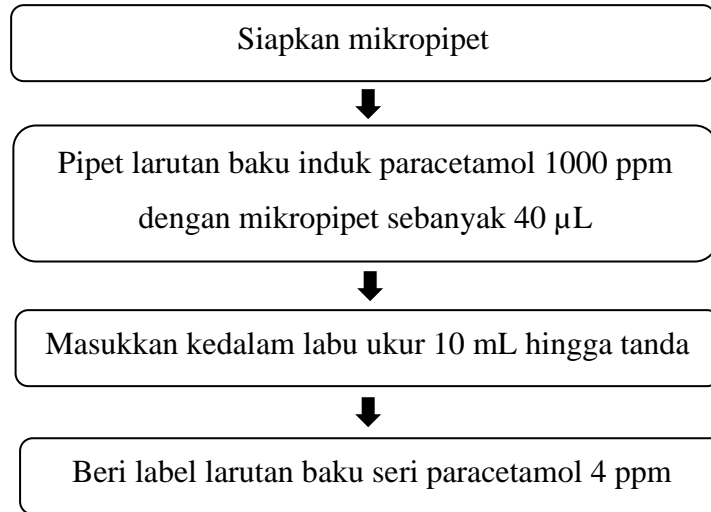
Larutan baku seri Paracetamol 2 ppm



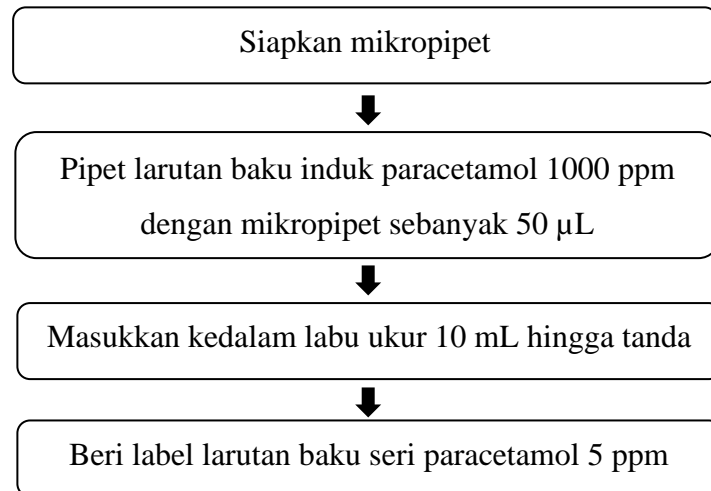
Larutan baku seri Paracetamol 3 ppm



Larutan baku seri Paracetamol 4 ppm

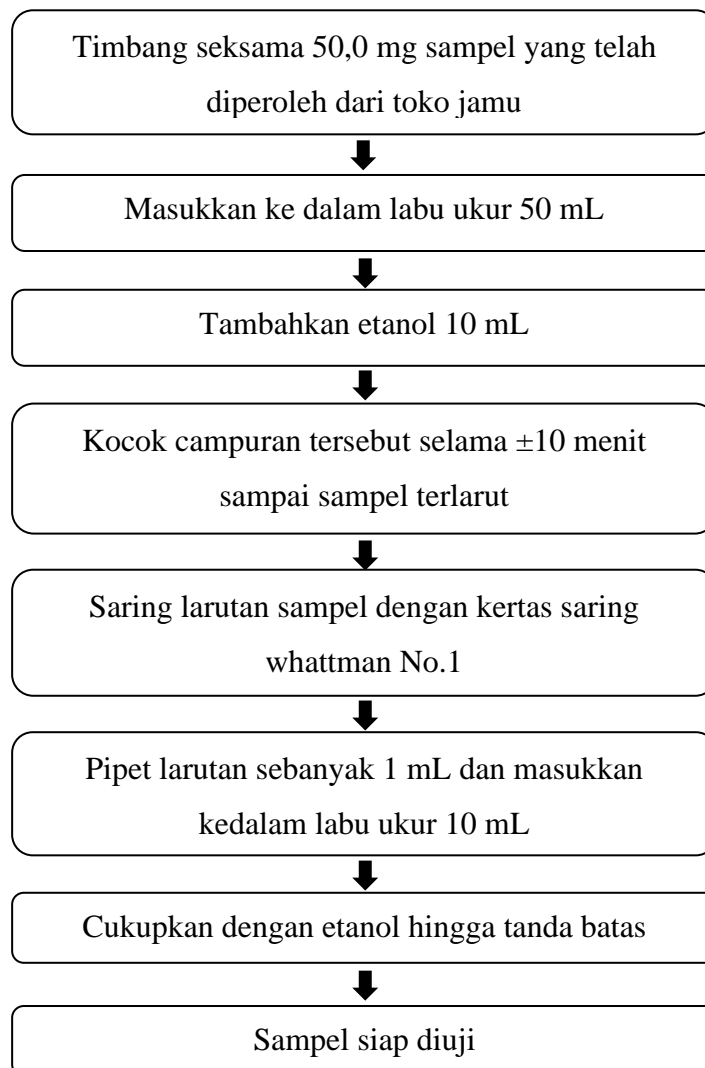


Larutan baku seri Paracetamol 5 ppm



1.6.7 Pembuatan larutan uji

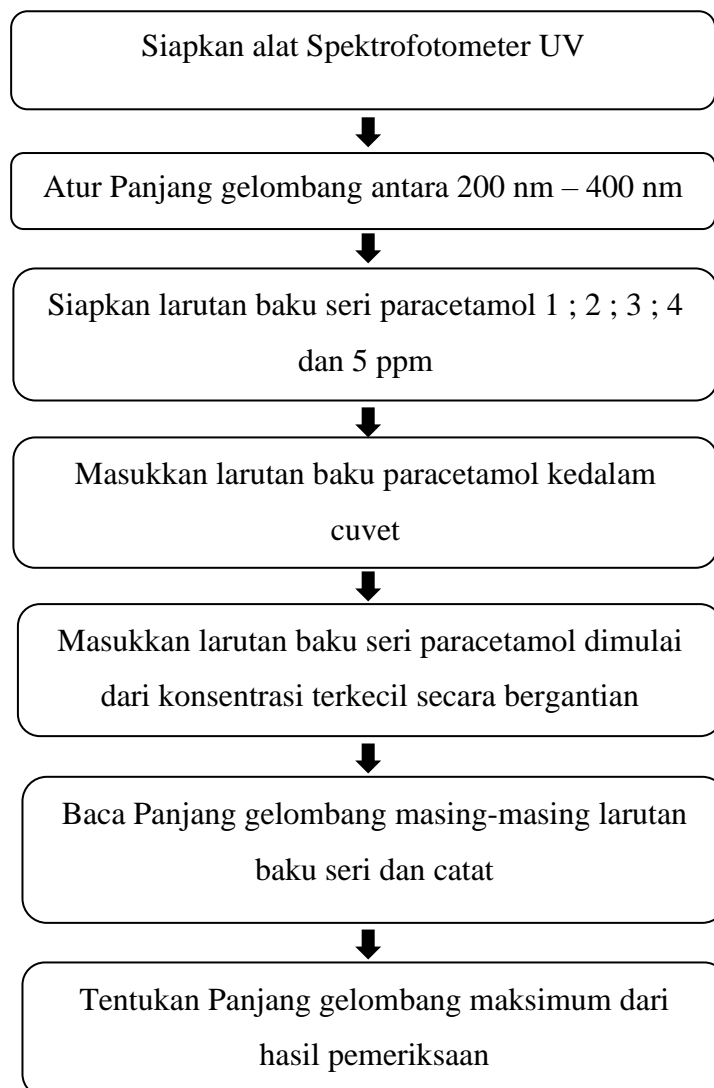
Berdasarkan pembuatan larutan uji oleh Dimas et al (2019) yang telah dimodifikasi sampel jamu pegal linu dilakukan penimbangan sebanyak ± 50 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, ditambahkan 10 mL etanol, dikocok ± 10 menit kemudian dicukupkan sampai tanda batas dan disaring. Kemudian dipipet sebanyak 1 mL. Lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan dengan etanol hingga tanda batas.



1.6.8 Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan baku dengan konsentrasi 1; 2; 3; 4 dan 5 ppm dilakukan pengukuran serapan panjang gelombangnya antara 200 nm - 400 nm. Hasil penentuan panjang gelombang tersebut digunakan untuk menentukan kurva baku dan pengukuran larutan sampel berdasarkan jurnal D. I. Dimas et al (2019) yang telah dimodifikasi.

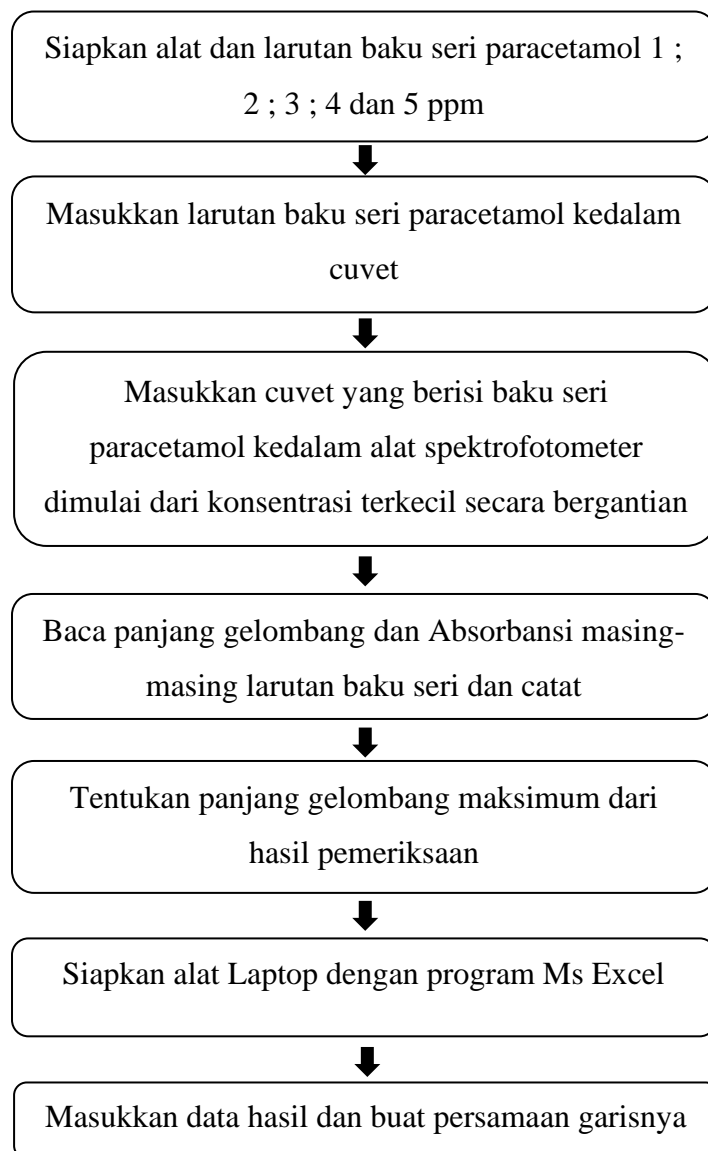
Prosedur penetapan Panjang gelombang Maksimum



1.6.9 Pembuatan kurva

Larutan baku seri dibuat dengan konsentrasi 1 ; 2 ; 3 ; 4 dan 5 ppm dilakukan pengukuran serapannya pada panjang gelombang maksimum yang telah didapat dan dibuat persamaan regresi linearnya (D. I. Dimas *et al.*, 2019)

Prosedur pembuatan kurva baku



1.6.10 Pengukuran larutan uji

Larutan sampel yang diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum selanjutnya dilakukan perhitungan kadar dari persamaan garis regresi yang didapat.

Teknik Analisa Data

Hasil penelitian yang diperoleh dianalisis, hasil uji kualitatif dan kuantitatif dianalisis secara deskriptif dalam bentuk tabel dan gambar, serta secara analitik yakni menggunakan regresi linear. Persamaan garis regresi: $y = bx + a$, dengan y = serapan, x = konsentrasi (ppm), a = konstanta, dan b = slope/kemiringan.

1.7 Perhitungan

Perhitungan Pembuatan larutan baku paracetamol 0,1 % b/v dalam etanol

$$\begin{aligned} 0,1 \% \text{ b/v} &= \frac{50 \text{ mg baku paracetamol}}{50 \text{ ml metanol}} \\ &= 1000 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Fase Gerak I dengan 2 campuran pelarut sebanyak 10 mL

Etil Asetat : Kloroform

2 : 1

$$\begin{aligned} \text{Etil Asetat} &= \frac{2}{3} \times 10 \text{ mL} \\ &= 6,66 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kloroform} &= \frac{1}{3} \times 10 \text{ mL} \\ &= 3,33 \text{ mL} \end{aligned}$$

Fase Gerak II dengan 3 campuran pelarut sebanyak 10 mL

Etil Asetat : Metanol : Amoniak

85 : 10 : 5

$$\begin{aligned} \text{Etil Asetat} &= \frac{85}{100} \times 10 \text{ mL} \\ &= 8,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Metanol} &= \frac{10}{100} \times 10 \text{ mL} \\ &= 1 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Amoniak} &= \frac{5}{100} \times 10 \text{ mL} \\ &= 0,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Pembuatan larutan Baku Seri paracetamol dari larutan induk 1000 ppm
sebanyak 10 mL dengan konsentrasi 1 ; 2 ; 3; 4 dan 5 ppm

Perhitungan 1 ppm 10 mL

Diketahui

$$M1 = 1000 \text{ ppm}$$

$$V2 = 10 \text{ mL}$$

$$M2 = 1 \text{ ppm}$$

Ditanya $V1 =$

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \cdot 1 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{10 \text{ mL} \times 1 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,01 \text{ mL} \sim 10 \mu\text{L}$$

Perhitungan 2 ppm 10 mL

Diketahui

$$M1 = 1000 \text{ ppm}$$

$$V2 = 10 \text{ mL}$$

$$M2 = 2 \text{ ppm}$$

Ditanya $V1 =$

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \cdot 2,5 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{10 \text{ mL} \times 2 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,02 \text{ mL} \sim 20 \mu\text{L}$$

Perhitungan 3 ppm 10 mL

Diketahui

$$M1 = 1000 \text{ ppm}$$

$$V2 = 10 \text{ mL}$$

$$M2 = 3 \text{ ppm}$$

Ditanya $V1 =$

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \cdot 3 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{10 \text{ mL} \times 3 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,03 \text{ mL} \sim 30 \mu\text{L}$$

Perhitungan 4 ppm 10 mL

Diketahui

$$M1 = 1000 \text{ ppm}$$

$$V2 = 10 \text{ mL}$$

$$M2 = 4 \text{ ppm}$$

Ditanya $V1 =$

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \cdot 4 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{10 \text{ mL} \times 4 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,04 \text{ mL} \sim 40 \mu\text{L}$$

Perhitungan 5 ppm 10 mL

Diketahui

$$M1 = 1000 \text{ ppm}$$

$$V2 = 10 \text{ mL}$$

$$M2 = 5 \text{ ppm}$$

Ditanya $V1 =$

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \cdot 5 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{10 \text{ mL} \times 5 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 0,05 \text{ mL} \sim 50 \mu\text{L}$$

Perhitungan Pembuatan larutan uji jamu pegal linu 0,1 % b/v dalam etanol

$$\begin{aligned} 0,1 \% \text{ b/v} &= \frac{50 \text{ mg sampel jamu pegal linu}}{50 \text{ ml metanol}} \\ &= 1000 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Lakukan 3 kali pengulangan untuk masing-masing sampel.

Perhitungan larutan sampel untuk uji spektrofotometer UV

Perhitungan larutan uji sampel dengan 100 ppm

Diketahui

$$M1 = 1000 \text{ ppm}$$

$$V2 = 10 \text{ mL}$$

$$M2 = 100 \text{ ppm}$$

Ditanya V1=

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \cdot 100 \text{ ppm}$$

$$V1 = \frac{10 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V1 = 1 \text{ mL}$$