

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang dilakukan adalah jenis penelitian analisis kualitatif kandungan asam mefenamat, allopurinol dan deksametason dalam jamu racikan.

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

##### 1. Tempat penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi dan Laboratorium Kimia Prodi Farmasi, Poltekkes Kemenkes Kupang.

##### 2. Waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari sampai bulan Mei tahun 2025.

#### **C. Populasi dan Sampel**

##### 1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah jamu racikan yang beredar di Kota Kupang.

##### 2. Sampel dan Teknik sampling

###### a) Sampel

Pedagang jamu tradisional berjumlah 6 orang yang diketahui berdasarkan hasil survei lapangan dan laporan tahunan BPOM Kota Kupang 2022 meliputi: 3 usaha kecil obat tradisional (UKOT) dan 1 usaha mikro obat tradisional (UMOT). Apabila jumlah populasinya kurang dari 100, maka jumlah sampelnya diambil secara keseluruhan, sehingga sampel dalam penelitian ini adalah sama

dengan jumlah populasi yaitu 6 pedagang obat tradisional, tiga UKOT dan satu UMOT. Jumlah sampel tersebut dimasukkan dalam kriteria inklusi yakni jamu racikan serbuk dan belum terdaftar BPOM dan jamu yang memiliki nomor izin edar palsu sehingga didapatkan sampel yang mewakili populasi yakni sebanyak 5 jamu dengan merek berbeda (Arikunto, 2012).

b) Teknik sampling

Teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini adalah *purposive sampling*, yaitu pengambilan sampel berdasarkan kriteria.

#### **D. Variabel Penelitian**

1. Variabel bebas

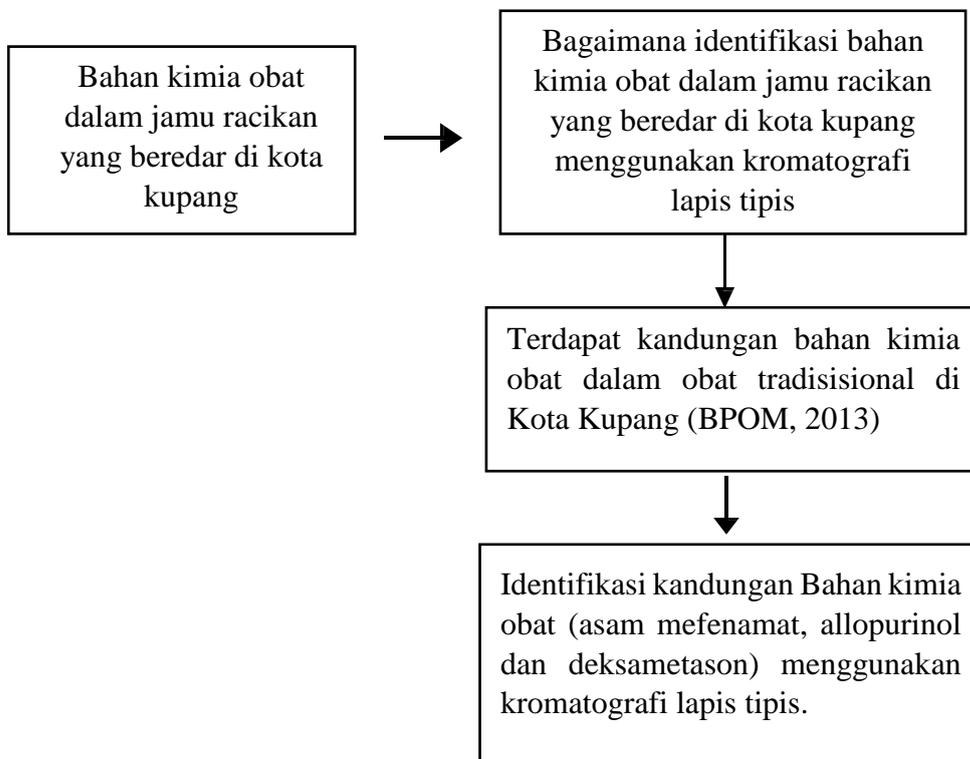
Variabel bebas dari penelitian ini adalah jamu racikan yang beredar di Kota Kupang.

2. Variabel terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah bahan kimia obat asam mefenamat, allopurinol dan deksametason.

#### **E. Kerangka Konsep**

Kerangka konsep adalah uraian dari satu konsep dengan konsep lainnya atau variabel satu dengan variable lain dari masalah yang ingin diteliti (Notoatmodjo, 2018). Kerangka konsep dari penelitian ini seperti pada Gambar 7.



Gambar 7. Kerangka Konsep

## F. Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional

No	Variabel	Defenisi operasional	Alat ukur	Skala
1.	Bahan kimia obat	Senyawa obat sintetik berupa asam mefenamat, allopurinol dan deksametason yang ditambahkan dalam jamu pereda nyeri haid, asam urat dan pegal linu yang beredar di Kota Kupang	Kromatografi Lapis Tipis	Nominal
2.	Jamu racikan	Jamu dalam bentuk serbuk, pil, kapsul yang diambil dari beberapa tempat penjualan jamu di Kota Kupang	-	Nominal

## G. Alat dan Bahan

### 1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas beker (*pyrex*), chamber (*camag*), gelas ukur (*pyrex*), neraca analitik (EW 220-3NM), labu ukur 10 mL (*pyrex*), pipa kapiler 2  $\mu$ L (*camag*), oven (*memmert* UF 30), pipet ukur (*pyrex*), pipet tetes (*pyrex*), sarung tangan (*latex examination gloves*), silika gel GF<sub>254</sub>, lampu UV 254 nm dan 366 nm.

### 2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, baku asam mefenamat 500 mg (HJ generik), deksametason 0,5 mg (kimia farma), allopurinol 100 mg (HJ generik), sampel jamu, metanol (*merck*), etanol 96% (*merck*), kloroform (*merck*) dan etil asetat (*merck*).

## H. Prosedur Penelitian

### 1. Persiapan bahan uji

Sampel diambil di *area car free day*, Pasir Panjang dan Ketapang Satu, Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur. Jamu yang diambil adalah sebanyak 5 jenis jamu serbuk kemasan.

### 2. Prosedur skrining fitokimia

#### a. Skrining asam mefenamat

1) Diambil 1 mL sampel direaksikan dengan 1 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 10%.

Dilakukan pengamatan terhadap hasil reaksi menghasilkan warna ungu kehitaman (Rusmalina *et al.*, 2020).

2) Senyawa yang mengandung asam karboksilat dimasukkan dalam tabung reaksi, tambahkan natrium bikarbonat 5% beberapa tetes, gas CO<sub>2</sub> yang terbentuk dalam reaksi ini menandakan bahwa asam karboksilat berreaksi dengan natrium bikarbonat menghasilkan garam, air, dan gas karbon dioksida (Anthonius *et al.*, 2021)

b. Skrining deksametason

Uji steroid menggunakan metode liebermann burchard, ekstrak dilarutkan dalam kloroform kemudian ditambah pereaksi Liebermann-Burchard (asam asetat anhidrat dan asam sulfat) menunjukkan hasil positif dengan adanya perubahan warna menjadi warna hijau (Habibi *et al.*, 2018).

c. Skrining allopurinol

Larutan sampel dilarutkan ditambahkan p-DAB (*para-diaminobenzene*) yang dilarutkan dalam etanol 95% dan HCl pekat (p-DAB HCl) kemudian amati perubahan warna larutan menjadi kekuningan (Pratiwi *et al.*, 2019).

3. Penyiapan sampel

a. Sampel asam mefenamat

Sebanyak 175 mg sampel jamu ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL, lalu ditambahkan etanol hingga mencapai batas takar. Sampel dibiarkan selama 10 menit agar bagian yang tidak larut terpisah dari yang larut. Setelah itu, bagian yang larut diambil untuk digunakan sebagai sampel dalam pengujian kualitatif (Harjanti *et al.*, 2023).

b. Sampel allopurinol

250 mg serbuk sampel jamu ataupun sampel simulasi ditambahkan 25 mL metanol, homogenkan dengan sonikator, kemudian disaring dengan kertas saring Whatman No 41 (Roni dan Minarsih, 2021).

c. Sampel deksametason

Ditimbang masing-masing sampel jamu sebanyak 500 mg kemudian tambahkan 10 mL kloroform, homogenkan kemudian disaring (Saputra, 2015).

4. Pembuatan larutan baku

a. Larutan baku asam mefenamat

Baku asam mefenamat ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan pelarut etanol sampai tanda batas, kemudian dihomogenkan (Harjanti *et al.*, 2023).

b. Larutan baku allopurinol

Ditimbang 25 mg baku allopurinol, dilarutkan dengan metanol sampai sebanyak 25 mL (Roni dan Minarsih, 2021).

c. Larutan baku deksametason

Dibuat larutan deksametason 0,1% b/v dalam metanol (Saputra, 2015).

5. Penyiapan fase gerak

a. Fase gerak asam mefenamat

Analisis kualitatif asam mefenamat menggunakan fase gerak kloroform:metanol (8:1) sebanyak 10 mL (Hayun dan Karina, 2016).

b. Fase gerak allopurinol

Analisis kualitatif allopurinol menggunakan fase gerak kloroform:etil asetat (1:4) sebanyak 10 mL (Roni dan Minarsih, 2021).

c. Fase gerak deksametason

Analisis kualitatif deksametason menggunakan fase gerak kloroform:etil asetat (1:4) sebanyak 10 mL (Roni dan Minarsih, 2021).

6. Analisis kromatografi lapis tipis

a. Analisis asam mefenamat

Analisis dilakukan menggunakan lempeng silika gel GF<sub>254</sub> berukuran 9 cm x 5 cm yang sudah diaktivasi menggunakan oven selama 30 menit dengan suhu 105 °C dan fase gerak kloroform:metanol (8:1) (Kemenkes, 1979). *Chamber* kromatografi dijenuhkan dengan fase gerak menggunakan kertas saring, setelah itu baku pembanding dan sampel ditotolkan dengan menggunakan mikropipet 2 µL dengan jarak antara tiap bercak adalah 1 cm (Hayun dan Karina, 2016). Lempeng kemudian dielusi dalam *chamber* yang telah dijenuhkan dengan fase gerak, setelah mencapai tanda batas plat diangkat dan dikeringkan kemudian semprot menggunakan reagen penampang bercak ninhidrin kemudian dilihat di bawah lampu uv 254 nm akan menghasilkan bercak berwarna merah/ ungu (Harjanti *et al.*, 2023).

b. Analisis allopurinol

Analisis dilakukan menggunakan lempeng silika gel GF<sub>254</sub> berukuran 10 cm x 6 cm yang sudah diaktivasi menggunakan oven selama 30 menit dengan suhu 105 °C dan fase gerak kloroform:etil asetat (1:4) (Kemenkes, 1979).

*Chamber* kromatografi dijenuhkan dengan fase gerak menggunakan kertas saring, setelah itu baku pembanding dan sampel ditotolkan dengan menggunakan mikropipet 2  $\mu$ L dengan jarak antara tiap bercak adalah 1 cm (Hayun dan Karina, 2016). Lempeng kemudian dielusi dalam *chamber* yang telah dijenuhkan dengan fase gerak, setelah mencapai tanda batas plat diangkat dan dikeringkan kemudian semprot menggunakan reagen penampang bercak iodine kemudian dilihat di bawah lampu uv 254 nm akan menghasilkan bercak berwarna ungu/ violet (Harjanti *et al.*, 2023).

c. Analisis deksametason

Analisis dilakukan menggunakan lempeng silika gel GF<sub>254</sub> berukuran 10 cm x 6 cm yang sudah diaktivasi menggunakan oven selama 30 menit dengan suhu 105 °C dan fase gerak kloroform:etil asetat (1:4) (Kemenkes, 1979). *Chamber* kromatografi dijenuhkan dengan fase gerak menggunakan kertas saring, setelah itu baku pembanding dan sampel ditotolkan dengan menggunakan mikropipet 2  $\mu$ L dengan jarak antara tiap bercak adalah 1 cm (Hayun dan Karina, 2016). Lempeng kemudian dielusi dalam *chamber* yang telah dijenuhkan dengan fase gerak, setelah mencapai tanda batas plat diangkat dan dikeringkan kemudian semprot menggunakan reagen penampang bercak liebermann burchard kemudian dilihat di bawah lampu uv 254 nm akan menghasilkan bercak berwarna biru kehijauan (Harjanti *et al.*, 2023).

## **I. Analisis Data**

Analisa data dalam penelitian ini akan didapatkan data analisa kualitatif dari metode kromatografi lapis tipis dengan nilai Rf dan warna dari bercak noda (Rohman dan Ganjar, 2007). Rumus menghitung Rf adalah sebagai berikut:

$$\text{Rf: } \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempu pelarut}}$$

Nilai Rf dan warna bercak noda yang telah dihasilkan dibandingkan dengan nilai Rf serta warna noda dari standar asam mefenamat, allopurinol dan deksametason. Sehingga dapat ditarik kesimpulan ada atau tidaknya bahan kimia obat asam mefenamat, allopurinol, dan deksametason pada sampel jamu racikan.