

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat yang digunakan antara lain: kaca arloji; mortir; stamper; timbangan analitik kepekaan 0,01 mg (Mettler Toledo, XS 205 DU); gelas beaker 100 ml (Pyrex); gelas ukur 10 ml (Pyrex); bejana kromatografi; ultrasonikator, sentrifugator; linomat 5 (Camag), TLC Scanner (Camag); spektrofotometer FTIR Spectrum Two (Perkin Elmer) dengan detektor DTGS (*deuterated triglycine sulphate*), dan dihubungkan dengan *software* Spectrum™ digunakan untuk mengukur spektra FTIR.

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan antara lain: sampel jamu pegal linu yang diperoleh dari toko-toko jamu di Yogyakarta; standar fenilbutason (BPL BPOM); KBr (Merck); Plat KLT silika Gel 60 GF254 (Merck); metanol p.a (Merck); kloroform (Merck); ammonia p.a (Merck); akuades.

3.2 Cara Penelitian

3.2.1 Uraian Penelitian

3.2.1.1 Pengumpulan Sampel Jamu

Dipilih sampel jamu pegal linu kemasan yang diperoleh dari toko-toko jamu yang berada di daerah Yogyakarta. Pemilihan jamu berdasarkan khasiat yang tertera pada kemasannya. Jamu yang digunakan berupa serbuk dan terbebas dari BKO yang digunakan yaitu fenilbutason.

3.2.1.2 Pengujian Kualitatif Sampel Jamu

Sebanyak 1000 mg sampel jamu pegal linu yang diduga terdapat fenilbutason dideteksi menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT), dengan cara diekstraksi menggunakan metanol 10 mL, kemudian disonifikasi selama 30 menit dan disaring untuk mendapatkan supernatannya. Setelah itu supernatan sampel ditotolkan sebanyak 3 μ pada fase diam berupa silika Gel GF dan dielusi menggunakan fase gerak berupa kloroform:metanol:amonia 10%

(80:17:3) dan dibaca menggunakan TLC Densitometri (Husein, 2017). Nilai Rf yang didapat pada sampel kemudian dibandingkan dengan nilai Rf standar yang digunakan. Sampel jamu yang digunakan adalah sampel yang memiliki nilai Rf berbeda dengan standar atau dengan kata lain sampel jamu yang tidak mengandung standar, hal ini dikarenakan agar kita dapat membuat konsentrasi standar yang kita inginkan.

3.2.1.3 Penyiapan Standar Fenilbutason

Digerus standar fenilbutason dengan KBr yang telah diaktivasi dengan cara dimasukkan ke dalam *oven* pada temperatur 100°C selama 1 jam dengan perbandingan 50 : 950 (50 mg ekstrak : 950 mg KBr). Standar kemudian disimpan dalam botol kedap udara.

3.2.1.4 Preparasi Sampel

Ditimbang serbuk jamu sebanyak 100 mg, dimasukkan ke dalam mortir kemudian dicampur standar fenilbutason dalam KBr dengan berbagai variasi kadar 1%; 5%; 10%; 15%; 20%; 25%; 40%; 45%, 80%; dan 85%.

3.2.1.5 Pembacaan Spektrum Inframerah

Serbuk jamu yang mengandung standar fenilbutason ditempatkan pada kristal ATR (*Attenuated Total Reflectance*) pada temperatur terkendali. Pengukuran dilakukan pada 32 *scanning*, dan pada daya pisah (resolusi) 1 cm⁻¹. Setelah dilakukan *scanning*, lempeng kristal ATR dibersihkan dengan aseton 2 kali dan metanol 2 kali serta dikeringkan dengan kertas tissue halus. Untuk menghindari adanya variasi spektra antar waktu, maka spektrum dasar (*background*) diukur setiap kali akan dilakukan pengukuran sampel. Semua spektra direkam pada 4000 sampai 645 cm⁻¹ dan dilakukan replikasi 3 kali, serta direkam dalam bentuk absorbansi.

3.3 Analisis Data

Analisis hasil FTIR berdasarkan besar bilangan gelombang yang menjadi ciri khas dari suatu gugus fungsi sampel tersebut dengan beberapa parameter validasi yaitu berdasarkan nilai koefisien determinasi (R²) dan presisi dievaluasi berdasarkan nilai RMSEC, PRESS, dan RMSEV.

3.4 Skema Penelitian

