BAB III
METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian secara eksperimental. Penelitian eksperimental ini bertujuan untuk mengetahui metode deteksi cepat yang paling optimal dan tervalidasi untuk identifikasi senyawa deksametason yang berada pada jamu pegal linu. Penelitian ini dikategorikan sebagai penelitian eksperimental karena dilakukan dengan cara mencoba, mengembangkan, dan menguji suatu metode deteksi secara langsung di laboratorium.

3.2. Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada bulan Januari – Mei 2025. Dilakukan di laboratorium kimia jurusan D3 Analisis Farmasi dan Makanan Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

3.3. Bahan dan Alat

3.3.1. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain natrium nitrit, asam sulfat pekat (98%) Merck, ammonium vanadat Merck, aquades, 1-naftol Merck, kertas perkamen, nata de coco, metanol PA Merck, NaOH, HCl, alumunium foil, plastik wrap, kertas saring whatman no.1, baku pembanding deksametason.

3.3.2. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain beaker glass 100 ml Iwaki, beaker glass 50 ml Iwaki, chopper elektrik Philips, corong buchner, labu ukur 100 ml Iwaki, labu ukur 50 ml Iwaki, pipet volume 10 ml Iwaki dan Bulb, pipet tetes, batang pengaduk, spatula, sendok, kaca arloji, gelas ukur 100 ml Iwaki, botol pipet gelap 10 ml, lemari asam, pH meter, botol gelap 10 ml, tabung reaksi Iwaki, rak tabung, neraca analitik.

3.4. Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang berpengaruh pada variabel lain. Dalam penelitian ini sebagai variabel bebas yakni jamu pegal linu.

3.4.2. Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi oleh sebuah atau sejumlah variabel lain. Dalam penelitian ini sebagai variabel terikat yakni BKO deksametason.

3.5. Definisi Operasional Variabel

Tabel 3. 1 Definisi Operasional Variabel

No.	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Deksametason	Bahan kimia obat yang terkandung di dalam jamu pegal linu	Deteksi cepat (strip tes dan tes kit)	Uji kualitatif	Positif (+): Jika terjadi perubahan warna pada strip tes dan tes kit. Negatif (-): Jika tidak terjadi perubahan warna pada strip tes dan tes kit.	Nominal
2.	Jamu pegal linu	Produk jamu pegal linu berlabel BPOM yang paling banyak dibeli.	Observasi	Observasi	-	-

3.6. Prosedur Penelitian

3.6.1. Pembuatan Reagen

Pada penelitian ini digunakan 4 reagen untuk mengidentifikasi deksametason. Reagen yang digunakan adalah reagen lieberman, reagen mandelin,

reagen naftol dan reagen asam sulfat. Keempat reagen pada penelitian ini menggunakan asam sulfat pekat sebagai pelarutnya (Moffat, et.al ,2011).

1. Reagen Lieberman

   Natrium nitrit ditimbang sebanyak 0,5 g, dilarutkan dalam 5 ml Asam sulfat pekat. Campuran natrium nitrit dan asam sulfat diputar-putar untuk menghilangkan asap coklat. Hasil reagen ditempatkan dalam botol pipet gelap dan ditutup rapat.
2. Reagen mandelin

   Ammonium vanadat ditimbang sebanyak 0,05 g. Dilarutkan dalam 0,075 ml aquades dan diencerkan hingga 5 ml dengan Asam sulfat pekat. Hasil reagen ditempatkan dalam botol pipet gelap dan ditutup rapat.
3. Reagen naftol-asam sulfat

   Sebanyak 1-Naftol ditimbang sebanyak 0,125 g. Kemudian dilarutkan dengan 5 ml Asam sulfat pekat. Campuran 1-naftol dan asam sulfat dipanaskan pada penangas dengan suhu 100 derajat hingga larut. Hasil reagen ditempatkan dalam botol pipet gelap dan ditutup rapat.
4. Reagen asam sulfat

   Reagen asam sulfat pekat digunakan secara langsung. Asam sulfat pekat dipipet sebanyak 5 ml dan dimasukkan dalam botol pipet gelap lalu ditutup rapat.

3.6.2. Pembuatan Larutan Standar Deksametason 500 ppm

Sebanyak 25 mg deksametason ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL. Selanjutnya, ditambahkan 10 mL pelarut metanol untuk melarutkan zat, kemudian larutan tersebut disonikasi selama 10 menit. Setelah itu, larutan diencerkan hingga tanda batas dengan pelarut yang sama. Hasil akhir berupa larutan baku deksametason dengan konsentrasi 500 ppm (Yuliantini, 2017).

3.6.3. Preparasi Sampel Jamu

Sampel jamu pegal linu ditimbang sebanyak 2 gram dan dimasukkan ke dalam Beaker glass, Kemudian dilarutkan menggunakan metanol sebanyak 20 ml dan didiamkan selama 10 menit kemudian dihomogenkan, selanjutnya disaring menggunakan kertas saring whatman no.1. Didapatkan filtrat dari sampel jamu

yang digunakan untuk analisis (Ayu, dan Cahyani, 2023).

3.6.4. Pembuatan Larutan *Spikedd*

Sampel jamu pegal linu ditimbang sebayak 2 gram dan dilarutkan dengan pelarut methanol sebanyak 20 ml. Filtrat dipisahkan dengan cara disaring dengan kertas saring whatman no 1. Ditambahkan 25 mg dexametason dan diaduk hingga homogen.

3.6.5. Tes Kit Berbasis Reagen Spesifik

Reagen lieberman, mandelin, naftol dan asam sulfat yang telah dibuat diteteskan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan larutan standar deksametason sebayak 1:1. Diamati perubahan warna yang muncul setelah penambahan larutan standar deksametason. Reaksi positif ditandai dengan munculnya perubahan warna khas sesuai reagen yang digunakan. Warna yang muncul diamati secara visual dan didokumentasikan menngunakan kamera *handphone*.

3.6.6. Strip Tes Berbasis Membran Nata De Coco

3.6.6.1 Pemurnian Nata De Coco

Nata de coco dicuci dengan air mengalir selama 24 jam. Direndam dengan NaOH selama kurang lebih satu hari dalam suhu kamar. Dicuci kembali dengan aquades dan diukur pH nata de coco hingga pH netral dengan pH meter. Dipotong kecil kecil dan diblender hingga halus (Ningtyas, 2015).

3.6.6.2 Imobilisasi Reagen Pada Membran

Imobilisasi dilakukan dengan cara *entrapment*. Untuk imobilisasi pada membran dilakukan dengan mengambil nata de coco yang yang telah dimurnikan diambil sebanyak 5g dan ditambahkan masing-masing tiap reagen yang telah dibuat (lieberman, mandelin, naftol dan asam sulfat). Diaduk hingga homogen dan dicetak dengan corong *Buchner* sampai dihasilkan membran (Ningtyas, 2015).

3.6.6.3 Uji Kualitatif Larutan Standar Dengan Strip Tes Berbasis Membran Nata De Coco

Diambil larutan standar deksametason sebanyak 0,5ml kemudian diteteskan pada membran. Dilakukan pencatatan data dengan berdasarkan waktu respon membran. Dilakukan penentuan waktu respon dengan melihat hasil perubahan

warna pada strip tes setelah ditetesi larutan standar deksametason.

3.6.7. Uji Optimasi Waktu

Pada tiap reagen yang digunakan dilakukan uji optimasi waktu, yakni dengan cara meneteskan tiap reagen dengan larutan standar deksametason. Penetesan dilakukan di dalam tabung reaksi. Uji optimasi waktu dilakukan dengan variasi rentang waktu 1, 3, 5, 7, 9 dan 15 menit. Uji optimasi waktu dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.

3.6.8. Uji Spesifitas

Pada tiap reagen dilakukan uji spesifitas dengan menguji tiap reagen menggunakan larutan deksametason, sampel jamu dan *spiked* menggunakan waktu optimum yang telah diperoleh dari uji optimasi waktu.

3.7. Pengolahan dan Penyajian Data

Data yang diperoleh berupa data kualitatif dari pengujian kandungan deksametason pada jamu pegal linu dengan strip tes dan tes kit.

Tabel 3. 2 Penyajian Data Strip Tes

No.	REAGEN	STRIP TEST SEBELUM DIREAKSIKAN	STRIP TEST SESUDAH DIREAKSIKAN	WAKTU RESPON OPTIMUM
1.	Lieberman			
2.	Mandelin			
3.	Naftol			
4.	Asam sulfat			

Tabel 3. 3 Penyajian Data Tes Kit

No.	REAGEN	TES KIT REAGEN SEBELUM DIREAKSIKAN	TES KIT REAGEN SESUDAH DIREAKSIKAN	WAKTU RESPON OPTIMUM
1.	Lieberman			
2.	Mandelin			
3.	Naftol			
4.	Asam sulfat			