

BAB III

TATA KERJA

3.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik (*Mettler Toledo*), mikropipet, alat-alat yang biasa digunakan di laboratorium, membran filter (*Agilent*), blender simplisia, seperangkat alat sokhletasi, *hot plate*, alat sonikator, instrumen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (*Shimadzu*, tipe *LC-20AT*), spektrofotometer UV – Visibel (*Shimadzu UV 1800*).

3.2 Bahan Penelitian

3.2.1. Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah simplisia buah cabe jawa yang diperoleh dari Toko Jamu di kota Bandung.

3.2.2. Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah serbuk standar piperin (*Tokyo Chemical Industry*)[®], metanol Pro HPLC (*Fulltime*)[®], etanol teknis 96% (*Brataco*) dan *Water For Injection* (PT. Ikapharmindo Putramas)[®].

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Determinasi Simplisia

Simplisia dideterminasi di bagian Herbarium Laboratorium Taksonomi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran.

3.3.2 Pembuatan Larutan Standar

Serbuk standar piperin dibuat larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm dengan cara 25 mg piperin dilarutkan dengan metanol sampai volume 25 mL, kemudian berbagai konsentrasi larutan standar piperin dibuat dari larutan induk tersebut.

3.3.3 Tahapan Optimasi

1. Penentuan Panjang Gelombang

Larutan standar piperin dengan konsentrasi tertentu ditentukan panjang gelombangnya dengan menggunakan spektrofotometer UV-visibel.

2. Penentuan Fase Gerak

Optimasi fase gerak dilakukan dengan cara mengatur komposisi berbagai macam pelarut seperti metanol, asetonitril, asam fosfat, dan air, hingga diperoleh kromatogram yang baik.

3.3.4 Preparasi Sampel

Alat sokhletasi dipasang, kemudian sampel sebanyak 40 gram dibungkus dengan kertas saring dan diikat dengan benang, dimasukkan kedalam alat sokhlet, lalu pelarut etanol 96 % sebanyak 400 mL dimasukkan ke dalam labu sokhlet. Sokhletasi dilakukan dengan suhu 70 °C sampai tetesan siklus tidak bewarna lagi. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan pada suhu 50 °C. Dihitung hasil rendemen ekstrak etanol 96 % buah cabe jawa. Nilai rendemen ekstrak buah cabe jawa tidak kurang dari 12,0 % (Farmakope Herbal, 2009).

3.3.5 Analisis Sampel

Larutan induk sampel disiapkan dengan konsentrasi 1000 ppm dengan cara 25 mg ekstrak ditimbang, kemudian ke dalam labu ukur dimasukkan dan 25 mL metanol dilarutkan hingga homogen. Larutan sampel diencerkan dalam labu ukur 10 mL, kemudian didegasi menggunakan sonikator dan disaring menggunakan membran filter. Lalu larutan diinjeksikan pada KCKT. Piperin diidentifikasi dan dikuantifikasi dengan membandingkan waktu retensi piperin standar.

3.3.6 Penentuan Kinerja Analisis Metode

Kinerja analisis metode terdiri dari:

1. Kesesuaian Sistem

Larutan standar dengan konsentrasi tertentu diinjeksikan sebanyak 20 µL pada instrumen KCKT, diulang sebanyak 5 kali dan dihitung nilai % *RSD* (*Relative Standard Deviation*), *tailing factor*, resolusi (*R_s*), efisiensi kolom (*N*) dan kapasitas kolom (*K¹*).

LAMPIRAN

2. Presisi

Larutan standar dengan konsentrasi tertentu dilakukan pengukuran beberapa kali pada hari yang sama. Kemudian persentase simpangan baku relatif (% *RSD*) dihitung dari masing-masing konsentrasi.

3. Rentang dan Linearitas

Larutan standar (1000 ppm) yang telah dibuat menjadi beberapa konsentrasi, kemudian 5 konsentrasi untuk kurva baku ditentukan. AUC yang diperoleh dibuat kurva terhadap konsentrasi, kemudian nilai koefisien korelasi (*R*) diamati. Jika $R \geq 0,995$ maka dapat dikatakan bahwa pada kisaran konsentrasi rendah hingga tinggi adalah linear (Gandjar dan Rohman, 2012).

4. Batas Deteksi dan Batas Kuantifikasi

BD dan BK ditentukan dari kurva baku dengan menggunakan persamaan:

$$\begin{aligned} \text{Batas Deteksi} & : \frac{3,3 \times SD}{b} \\ \text{Batas Kuantifikasi} & : \frac{10 \times SD}{b} \end{aligned}$$

Keterangan:

$K = 3,3$ (untuk BD), 10 (untuk BK)

SD = standar deviasi

b = kemiringan kurva kalibrasi

5. Spesitifitas

Sampel dilihat waktu retensi kemudian dilihat puncak yang terpisah. Jika jarak antar puncak terpisah dengan baik, maka nilai resolusi $> 1,5$. Waktu retensi dibandingkan dengan standar.

6. Akurasi

Akurasi dilakukan menggunakan standar dengan konsentrasi dari rentang dinamik linier rendah, sedang dan tinggi, kemudian dihitung persen perolehan kembali (% *recovery*).