

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian non eksperimental dengan metode deskriptif kuantitatif, yaitu mendeskripsikan hasil pengujian mutu ekstrak etanol daun kelor asal Desa Merak Belantung, Kecamatan Kalianda, Kabupaten Lampung Selatan, Provinsi Lampung yang akan dibandingkan dengan parameter Farmakope Herbal Indonesia Edisi II Tahun 2017.

B. Subjek Penelitian

Subjek pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun kelor yang diperoleh dari Desa Merak Belantung, Kecamatan Kalianda, Kabupaten Lampung Selatan Provinsi Lampung.

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Tanjungkarang dan UPT Laboratorium Terpadu Dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung pada bulan Maret-Juni 2024.

D. Pengumpulan Data

1. Cara pengumpulan data

Pada penelitian ini data diambil berdasarkan pengujian ekstrak yang didapatkan dengan cara ekstraksi menggunakan metode maserasi dan hasil maserat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath* suhu 50°C hingga menjadi ekstrak kental. Pengujian parameter ekstrak meliputi:

- a. Rendemen ekstrak
- b. Sifat organoleptik ekstrak etanol daun kelor
- c. Uji kandungan kimia ekstrak etanol daun kelor
- d. Uji kadar air ekstrak etanol daun kelor
- e. Uji kadar abu ekstrak etanol daun kelor
- f. Uji kadar abu tidak larut asam ekstrak etanol daun kelor
- g. Uji kadar flavonoid total ekstrak etanol daun kelor

2. Alat dan Bahan

a. Alat

Pisau, baskom, blender (philips), gelas piala (1000 ml, 500 ml, 250 ml, 100 ml), aluminium foil, ayakan no.40, batang pengaduk, *spektrofotometer Uv-Vis* (Shimizu 1900), kertas saring, erlenmeyer (1000 ml, 250 ml, 100 ml), *rotary evaporator* (rocker), neraca analitik (bel engineering), *waterbath* (CAPP CRWB-30), cawan porselen, plastik klip, kertas saring bebas abu, labu ukur (10 ml, 20 ml, 50 ml 100 ml), spatula, oven, kompor listrik, tabung reaksi, ayakan mesh no.40, gelas ukur (25 ml, 50 ml, 500 ml), pipet tetes, krus porselen, desikator, tanur (Furnace Lenton), corong gelas (90 mm), pipet volume (1,0 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml; 5,0 ml; 10 ml; 25 ml) dan rak tabung reaksi.

b. Bahan

Daun kelor, simplisia daun kelor, etanol 96%, ekstrak etanol daun kelor, aquadest, KI, HgCl₂, Bi(NO₃)₃, HNO₃, HCl 2N, FeCl₃, serbuk Mg, HCl_(p), amil alkohol, AlCl₃ 10%, H₂SO_{4(p)}, NH_{3(p)}, mayer, bouchardat, dragendrof, kuersetin, I, CH₃COOH 5%, n-heksan, dan etanol p.a.

3. Prosedur kerja penelitian

a. Identitas daun kelor

Identitas daun kelor dilakukan untuk mengetahui klasifikasi tanaman kelor yang dilakukan di Laboratorium Botani Universitas Lampung.

b. Pembuatan simplisia daun kelor

- 1) Dikumpulkan daun kelor segar.
- 2) Daun kelor yang telah dikumpulkan, dilakukan pemisahan dari tangkai daun dan kotoran yang menempel.
- 3) Dicuci daun kelor kemudian ditiriskan.
- 4) Dipotong daun kelor menjadi bagian yang lebih kecil.
- 5) Dilakukan pengeringan simplisia yang sudah dirajang, pengeringan menggunakan oven pada suhu 50°C. Setelah simplisia kering, dilakukan kembali pemisahan dari kotoran yang masih tersisa.
- 6) Selanjutnya simplisia diblender dan diayak menggunakan ayakan mesh no.40.

c. Pembuatan ekstrak etanol daun kelor dengan metode maserasi

- 1) Ditimbang 1,569 kg serbuk simplisia daun kelor pada neraca analitik.
- 2) 1,569 kg simplisia daun kelor yang telah ditimbang dimasukkan dan dibagi kedalam 2 wadah. Wadah pertama berisi 1 kg, dan wadah 2 berisi 569 g serbuk simplisia.
- 3) Kemudian direndam dengan pelarut etanol 96% (1:7). Wadah 1 direndam dengan 7 L pelarut dan wadah 2 dengan 4 L pelarut. Setelah direndam dengan pelarut perbandingan 1:7, simplisia tidak terendam sehingga pelarut ditambahkan menjadi 1:10. Wadah 1 direndam menggunakan total pelarut 10 L dan wadah 2 total pelarut 5,7 L.
- 4) Wadah ditutup dan dibiarkan selama 3 hari didalam ruangan yang terlindung dari cahaya, sambil diaduk sesekali.
- 5) Setelah perendaman 3 hari, dilakukan penyaringan.
- 6) Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan *waterbath* pada suhu 50 °C hingga diperoleh ekstrak kental, lalu ditimbang hasil ekstrak yang diperoleh.
- 7) Hasil ekstrak kemudian dihitung hasil rendemennya dengan cara hasil ekstrak dibagi dengan berat simplisia awal dikali 100%.

d. Pengujian organoleptik terhadap ekstrak etanol daun kelor (Depkes RI, 2000:31)

Pengujian organoleptik dilakukan dengan cara menggunakan panca indera dalam mendeskripsikan bentuk, aroma, warna, dan rasa yang ada pada ekstrak etanol daun kelor.

e. Uji kandungan kimia ekstrak etanol daun kelor (Purwoko, Syamsudin, Simanjuntak, 2020)

1. Identifikasi Alkaloid

- a) Ditimbang sampel ekstrak etanol daun kelor 0,5 g kemudian ditambahkan 1 ml asam klorida (HCl) 2 N dan 9 ml aquadest.
- b) Dipanaskan di *waterbath* selama 2 menit, didinginkan lalu disaring.
- c) Diambil 3 tetes filtrat, ditambahkan 2 tetes pereaksi mayer. Dinyatakan positif mengandung alkaoid apabila menghasilkan endapan putih atau kuning.

- d) Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi bouchardat. Dinyatakan positif mengandung alkaoid apabila menghasilkan endapan coklat-hitam.
- e) Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi dragendrof. Dinyatakan positif mengandung alkaoid apabila menghasilkan endapan merah bata.
Positif mengandung alkaloid jika terjadi endapan atau paling sedikit dua atau tiga dari percobaan di atas.

2. Identifikasi Flavonoid

- a) Ditimbang sampel ekstrak etanol daun kelor 10 g kemudian ditambahkan 50 ml air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas.
- b) Filtrat yang diperoleh kemudian diambil 5 ml lalu ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan 1 ml HCl pekat dan 2 ml amil alkohol, dikocok, dan dibiarkan memisah. Positif mengandung flavonoid jika terjadi warna merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol.

3. Identifikasi Saponin

- a) Ditimbang sampel ekstrak etanol daun kelor 0,5 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 ml aquadest panas.
- b) Dinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik, dilihat apakah terbentuk buih atau busa yang selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Positif mengandung saponin jika pada penambahan 1 tetes larutan asam klorida (HCl) 2 N buih tidak hilang.

4. Identifikasi Tanin

- a) Ditimbang sampel ekstrak etanol daun kelor 1 g ditambahkan dengan 10 ml aquadest panas, diaduk dan disaring.
- b) Tambahkan 1 ml NaCl 10% pada filtrat, aduk rata lalu saring .
- c) Bagi filtrat menjadi 4 bagian (A, B, C, dan D) .
- d) Filtrat A ditambahkan beberapa tetes gelatin, membentuk endapan.

- e) Filtrat B ditambahkan NaCl 10% dan gelatin 1% (sama banyak), membentuk endapan.
- f) Filtrat C ditambahkan 3 tetes larutan FeCl₃ 3%, membentuk larutan biru atau hijau.
- g) Filtrat D adalah sebagai blanko. Positif mengandung tanin apabila pada filtrat A dan B terbentuk endapan.

5. Identifikasi Steroid dan Triterpenoid

- a) Ditimbang sampel ekstrak etanol daun kelor 1 g kedalam cawan porselen dan ditambahkan dengan 20 ml n-heksana selama 2 jam, lalu disaring.
- b) Filtrat diuapkan dengan *waterbath* dan di lemari asam hingga meninggalkan seperti kerak pada cawan porselen.
- c) Pada sisa ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat.
- d) Amati warna yang timbul dan perubahannya. Positif mengandung steroid triterpenoid ditunjukkan dengan timbulnya warna ungu atau merah kemudian berubah menjadi hijau biru.

6. Uji kadar flavonoid total sebagai kuersetin (Fatmawati; dkk. 2021:66-70)

- a) Penentuan panjang gelombang maksimum
 - 1) Dipipet 1,0 ml larutan kuersetin 100 ppm, ditambahkan 1 ml AlCl₃ 10% dan 8 ml CH₃COOH 5%
 - 2) Lalu dilakukan pembacaan *spektrofotometri Uv-Vis* dengan panjang gelombang 400-500 nm, catat hasil panjang gelombang maksimum yang didapat.
- b) Absorbansi larutan standar kuersetin 100, 85, 75, 65, dan 50 ppm
 - 1) Dipipet 1,0 ml masing-masing larutan standar kuersetin 100 85, 75, 65, dan 50 ppm, ditambahkan 1 ml AlCl₃ 10% dan 8 ml CH₃COOH 5%
 - 2) Divorteks, lalu di cek absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang didapat.

- c) Absorbansi larutan uji ekstrak etanol daun kelor 1000 ppm
- 1) Dipipet 1,0 ml larutan uji ekstrak etanol daun kelor 1000 ppm ditambahkan 1 ml AlCl_3 10% dan 8 ml CH_3COOH 5%.
 - 2) Divorteks, lalu di cek absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang didapat.
 - 3) Data yang diperoleh dilakukan perhitungan dan hasil disesuaikan dengan persyaratan pada Farmakope Herbal Indonesia Edisi II Tahun 2017 tentang ekstrak etanol daun kelor (Kemenkes RI, 2017:212).
- g) Uji kadar air ekstrak etanol daun kelor (Kemenkes RI, 2017:528).
- 1) Timbang 10 gram ekstrak etanol daun kelor dengan timbangan analitik, menggunakan cawan porselen yang telah di ditimbang sebelumnya.
 - 2) Keringkan dalam oven dengan suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang hasil akhirnya.
 - 3) Hitung kadar air ekstrak etanol daun kelor dengan cara berat ekstrak awal dikurangi berat ekstrak akhir dibagi dengan berat ekstrak awal dikali 100%.
- h) Uji kadar abu ekstrak etanol daun kelor (Kemenkes RI, 2017:526)
- 1) Panaskan krus porselen pada oven suhu 105°C selama 30 menit.
 - 2) Dinginkan krus porselen dalam desikator selama 10 menit, lalu timbang, catat beratnya.
 - 3) Sebanyak 2 g ekstrak ditimbang masukkan dalam krus porselen.
 - 4) Dilakukan pengabuan pada tanur suhu 800°C , tunggu hingga menjadi abu.
 - 5) Kemudian timbang hingga bobot tetap.
 - 6) Hitung kadar abu ekstrak etanol daun kelor dengan cara berat ekstrak awal dibagi dengan berat akhir dikali 100%.
- i) Uji kadar abu tidak larut asam ekstrak etanol daun kelor (Kemenkes RI, 2017:526)
- 1) Abu yang diperoleh pada pengujian kadar abu dididihkan dengan 25 ml asam sulfat selama 5 menit pada kompor listrik, kumpulkan bagian yang tidak larut asam.

- 2) Saring bagian yang tidak larut asam dengan kertas saring bebas abu, lalu residu yang ada pada kertas saring dibilas dengan aquadest panas.
- 3) Timbang krus porselen pada neraca analitik, catat beratnya.
- 4) Filtrat dan kertas saringnya dimasukkan kembali dalam krus porselen.
- 5) Masukkan krus porselen pada tanur suhu 800°C secara perlahan-lahan hingga menjadi abu.
- 6) Kemudian timbang hingga bobot tetap.
- 7) Hitung kadar abu tidak larut asam ekstrak etanol daun kelor dengan cara berat ekstrak awal dibagi dengan berat akhir dikali 100%.

E. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

Pengolahan data dilakukan dengan cara menghitung dari hasil pengujian sifat organoleptik, uji kandungan senyawa kimia, kadar air, kadar abu, kadar abu tidak larut asam, dan kadar flavonoid total yang didapatkan dan hasil disesuaikan dengan persyaratan parameter ekstrak etanol daun kelor (*Moringa Oleifera* L. pada Farmakope Herbal Indonesia Edisi II Tahun 2017 (Kemenkes RI, 2017:212).

2. Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini dilakukan menggunakan analisis univariat dengan cara deskriptif kuantitatif. Analisis ini menampilkan hasil penilaian rata-rata dari masing-masing variabel untuk menghasilkan persentase dari tiap-tiap variabel, yaitu berdasarkan parameter mutu ekstrak yaitu sifat organoleptik, uji kandungan senyawa kimia, kadar air, kadar abu, kadar abu tidak larut asam, dan kadar flavonoid total yang disesuaikan dengan literatur Farmakope Herbal Indonesia Edisi II Tahun 2017 (Kemenkes RI, 2017:212). Data yang didapat akan disajikan dalam bentuk tabel berdasarkan hasil pengujian parameter mutu ekstrak.