

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat non-eksperimental dengan menggunakan metode deskriptif, yang berfokus pada uraian uji mutu ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq).

B. Subjek Penelitian

Subjek dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq) yang diperoleh dari Jl. Sabah Balau, Kecamatan Tanjung Bintang, Kabupaten Lampung Selatan, Lampung.

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Botani Universitas Lampung, Laboratorium Farmakognosi, Kimia, Solida, dan Steril Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Tanjung Karang dengan periode penelitian dari bulan Februari hingga Juni 2024.

D. Pengumpulan Data

1. Cara Pengumpulan Data

Pada penelitian ini pengumpulan data dilakukan dengan menguji berbagai parameter, meliputi:

- a. Kandungan kimia
- b. Usia tanaman atau bagian tanaman
- c. Cara pemanenan
- d. Lingkungan tumbuh
- e. Penyimpanan

2. Alat dan Bahan

a. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari berbagai peralatan yaitu botol (bejana) maserasi, beaker glass, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *silika gel 60 F₂₅₄*, cawan penguap, batang pengaduk, ayakan no. 60, timbangan analitik, *rotary evaporator*, *waterbath*, labu ukur, *oven*, pipet tetes, gelas ukur, pipa kapiler, *Laminar Air Flow (LAF)*, desikator, pipet volume, bulb, Erlenmeyer, corong glass, dan tanur.

b. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ekstrak etanol 96% daun kumis kucing, kapas, kertas saring, n-heksana, etil asetat, sinensetin, kloroform, *aquadest*, FeCl₃, reagen Mayer, reagen Bouchardat, reagen Dragendorf, HCl (p), HCl 2N, H₂SO₄ (p), asetat anhidrat, amil alkohol dan serbuk Mg.

3. Prosedur Kerja Penelitian

1) Identitas

Mendeskripsikan tata nama yang melibatkan penyebutan nama ekstrak, nama latin tumbuhan, bagian tanaman yang digunakan, serta nama botani di Indonesia (Depkes, 2000).

2) Pembuatan Simplisia Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq)

- 1) Diambil daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq) segar.
- 2) Daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq) dilakukan sortasi basah untuk memisahkan dari kotoran dan benda asing.
- 3) Daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq) dicuci dengan menggunakan air mengalir.
- 4) Daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq) dirajang untuk memperkecil ukurannya.

- 5) Daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq) yang telah dirajang diletakkan di atas nampan dan dikeringkan dalam oven pada suhu 50° C hingga kering.
 - 6) Daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq) dilakukan sortasi kering untuk memisahkan simplisia dari benda-benda asing maupun kotoran.
 - 7) Dikemas dengan pemberian label lalu simpan simplisia pada tempat yang kering dan terhindar dari kontaminasi.
- 3) Pembuatan ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq) dilakukan melalui metode ekstraksi maserasi dengan langkah-langkah sebagai berikut (Marjoni M. R., 2016) :
- 1) Dimasukkan 700 g simplisia daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq) ke dalam wadah yang dibagi menjadi 2 (wadah 1 berisi 350 g dan wadah 2 berisi 350 g).
 - 2) Setelah itu simplisia direndam dengan 4900 mL pelarut etanol 96% (wadah 1 350g simplisia dengan 2450 mL pelarut dan wadah 2 350g simplisia dengan 2450 mL pelarut).
 - 3) Kemudian bejana ditutup rapat dan dibiarkan selama tiga hari di tempat yang terlindung dari cahaya, dengan pengadukan dilakukan sebanyak tiga kali sehari.
 - 4) Setelah tiga hari, saring sari dari hasil maserasi. Ampasnya kemudian diremaserasi dengan merendamnya dalam 2800 mL pelarut etanol 96% dan mengaduknya sebanyak tiga kali sehari. Diamkan selama dua hari.
 - 5) Disaring hasil filtrat dari proses remaserasi dan gabungkan dengan filtrat dari maserasi pertama.
 - 6) Selanjutnya filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga menghasilkan ekstrak kental dari daun kumis kucing, lalu hitung hasil rendemen:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat bahan yang diekstrak}} \times 100 \%$$

4) Uji Organoleptik

Ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq) dianalisis berdasarkan bau, rasa, warna dan bentuk. Pengujian organoleptik ini melibatkan penggunaan panca indera untuk menilai secara fisik yaitu bau (aromatik atau tidak berbau), bentuk (padat, kental, atau cair), rasa (pahit, kuat, atau manis) dan warna (hijau tua, coklat, atau kuning).

5) Skrining fitokimia ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq) (Marjoni, 2016:8-13)

1) Identifikasi alkaloid

- a) Timbang 0,5 g kemudian tambahkan 1 mL HCl 2N dan 9 mL air suling.
- b) Panaskan dalam *waterbath* selama dua menit, kemudian didinginkan dan saring.
- c) Ambil tiga tetes filtrat, kemudian tambahkan dua tetes reagen Mayer memunculkan endapan putih/kuning.
- d) Ambil tiga tetes filtrat, kemudian tambahkan dua tetes reagen Bouchardat memunculkan endapan berwarna coklat-hitam.
- e) Ambil tiga tetes filtrat, kemudian tambahkan dua tetes reagen Dragendorf memunculkan endapan berwarna merah bata

Positif alkaloid jika muncul setidaknya dua endapan atau tiga dari pengujian di atas.

2) Identifikasi flavonoid

- a) Ditambahkan 10 g sampel ke dalam 100 mL air panas, dididihkan selama lima menit lalu saring selagi masih panas.
- b) Diambil 5 mL filtrat yang dihasilkan lalu tambahkan 0,1 g Mg bubuk, 1 mL HCl (p) dan 2 mL amil alkohol. Kocok campuran tersebut hingga rata dan biarkan terpisah.

Positif flavonoid jika lapisan amil alkohol menunjukkan warna merah, kuning atau jingga.

3) Identifikasi saponin

- a) Dimasukkan seujung spatula sampel ke dalam tabung reaksi, lalu tambahkan 10 mL air suling panas.

- b) Biarkan dingin, kemudian kocok dengan kuat selama sepuluh detik hingga terbentuk busa setinggi 1 hingga 10 cm dan biarkan selama minimal 10 menit.

Positif saponin jika setelah menambahkan satu tetes larutan HCl 2 N, busa tidak menghilang.

4) Identifikasi tanin

- a) Seujung spatula sampel dilarutkan dengan 10 mL air suling, kemudian saring.
- b) Filtrat diencerkan dengan air suling hingga tidak berwarna.
- c) Ambil 2 mL larutan dan tambahkan 1-2 tetes reagen FeCl_3 .

Positif tanin ditunjukkan dengan munculnya warna biru atau hijau hitam.

5) Identifikasi steroid dan triterpenoid

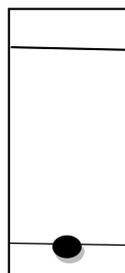
- a) Maserasi 1 g sampel dengan 20 mL n-heksana selama dua jam, kemudian saring.
- b) Filtrat diuapkan dalam cawan evaporasi.
- c) Pada sisa tambahkan dua tetes asam asetat anhidrat dan satu tetes H_2SO_4 (p).
- d) Diamati warna yang muncul dan perubahan yang terjadi.

Positif steroid triterpenoid ditunjukkan dengan munculnya warna ungu atau merah yang kemudian berubah menjadi hijau biru.

6) Uji kandungan kimia sinensetin

Prosedur Kromatografi

- a) Alat dan bahan dipersiapkan.
- b) Potong lempeng silika gel 60 F₂₅₄ dengan ukuran 10 cm x 2 cm. Tetapkan batas-batas sebagai berikut: batas atas dengan jarak 1 cm dari tepi; batas bawah dengan jarak 1 cm dari tepi; dan batas toloan dengan jarak 1 cm dari tepi kanan dan kiri. Ilustrasi potongan lempeng dapat dilihat seperti berikut:



- c) Penjenuhan bejana kromatografi dilakukan dengan menggunakan eluen kloroform-etil asetat dengan perbandingan (60:40).
- d) Lempeng silika gel diaktivasi dengan cara memanaskannya pada suhu 100°C selama 30 menit.
- e) Ekstrak daun kumis kucing ditotolkan 10 µl menggunakan pipa kapiler pada lempeng silika gel 60 F₂₅₄ yang sudah diberi tanda.
- f) Lempeng kemudian dikembangkan dalam bejana kromatografi di ruang gelap pada suhu ruangan.
- g) Lempeng dipindahkan dan dikeringkan pada suhu ruangan.
- h) Lempeng silika gel diperiksa dan dianalisis.

Tahap Uji Sinensetin Tumbuhan

- a) Lampu UV dipersiapkan.
- b) Nilai R_f diidentifikasi dan warna bercak diperiksa di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm.
- c) Uji sinensetin dilakukan dengan mengamati warna noda bercak dan nilai R_f yang mencapai 0,50 pada kromatogram.

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh oleh komponen}}{\text{jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

- 7) Pengujian susut pengeringan simplisia daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq) (Depkes, 2000)
- 1) Dipanaskan botol timbang pada suhu 105°C selama 30 menit.
 - 2) Dinginkan dalam desikator selama 10 menit, kemudian timbang.
 - 3) Timbang 1 gram simplisia dan masukkan ke dalam botol timbang.
 - 4) Ratakan simplisia dalam botol timbang menggunakan batang pengaduk hingga membentuk lapisan dengan ketebalan 5 mm hingga 10 mm.
 - 5) Keringkan pada suhu 105°C selama 60 menit dengan tutup botol terbuka.
 - 6) Biarkan dingin dalam desikator, kemudian timbang.
- Panaskan kembali pada suhu yang sama hingga mencapai berat yang konstan.

$$\% \text{ Susut Pengerinan} = \frac{A - B}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Bobot sampel sebelum dipanaskan (g)

B = Bobot sampel setelah dipanaskan (g)

8) Pengujian kadar air pada ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq) (Depkes, 2000)

- 1) Cawan yang telah ditara ditambahkan 2 gram ekstrak, lalu timbang dengan teliti.
- 2) Ekstrak dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam, lalu timbang.
- 3) Kadar air dihitung sebagai persentase.

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{A - B}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Bobot sampel sebelum dipanaskan (g)

B = Bobot sampel setelah dipanaskan (g)

9) Pengujian kadar abu pada ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq) (Depkes, 2000)

- 1) Timbang krus porselen dan pijarkan hingga mencapai kondisi konstan (W0).
- 2) Timbang dengan teliti 2 g ekstrak (W1) dan masukkan krus porselen.
- 3) Panaskan ekstrak secara perlahan dalam tanur hingga seluruh arangnya habis.
- 4) Kemudian timbang hingga beratnya konstan (W2).

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{W2 - W0}{W1} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 = bobot krus kosong (gram)

W1 = bobot ekstrak awal (gram)

W2 = bobot krus + ekstrak setelah diabukan (gram)

- 10) Pengujian kadar abu tidak larut asam ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq) (Depkes, 2000)
- 1) Abu yang diperoleh dari pengujian kadar abu didihkan dengan 25 mL H₂SO₄ selama lima menit, lalu kumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam.
 - 2) Disaring menggunakan kertas saring bebas abu dan cuci residu dengan air panas.
 - 3) Abu yang tertinggal di kertas saring bersama dengan kertas saring itu sendiri dikembalikan ke dalam krus porselen.
 - 4) Panaskan ekstrak secara perlahan dalam tanur hingga seluruh arang habis.
 - 5) Kemudian timbang hingga beratnya stabil (W₂).

$$\% \text{ Kadar Abu Tidak Larut Asam} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan :

W₀ = bobot krus kosong (gram)

W₁ = bobot ekstrak awal (gram)

W₂ = bobot krus + abu yang tidak larut asam (gram)

E. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

a. *Editing*

Periksa kembali data hasil observasi. Pengujian mencakup seluruh lembar uji meliputi uji identitas, uji organoleptik, uji kandungan senyawa kimia, penentuan susut pengeringan, penentuan kadar air, penentuan kadar abu dan penentuan kadar abu tidak larut asam. Pastikan data yang diperoleh lengkap untuk diolah lebih lanjut (Notoatmodjo, 2012).

b. *Entrying*

Data yang telah diedit kemudian dimasukkan ke dalam program komputer untuk analisis. Data tersebut dimasukkan ke dalam program pengolah tabel sesuai dengan evaluasi yang telah dilakukan seperti uji identitas, uji organoleptik, uji kandungan senyawa kimia, susut pengeringan, kadar air,

kadar abu total dan kadar abu tidak larut dalam asam. Setelah itu data dianalisis untuk menghitung persentasenya (Notoatmodjo, 2012).

c. Tabulasi

Setelah analisis data dilakukan, hasilnya disajikan dalam bentuk tabel. Data yang terdapat dalam tabel dan yang diolah menggunakan program komputer disajikan dalam bentuk tabel untuk mempermudah analisis (Notoatmodjo, 2012).

2. Analisis data

Analisis data dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan analisis univariat melalui metode deskriptif. Metode ini menampilkan hasil evaluasi rata-rata dari setiap variabel, menghasilkan distribusi frekuensi dan persentase untuk setiap variabel. Fokus analisis mencakup parameter kualitas ekstrak seperti identitas, uji organoleptik, uji kandungan kimia, serta parameter non-spesifik seperti susut pengeringan, kadar air, kadar abu dan kadar abu tidak larut asam. Hasilnya kemudian dibandingkan dengan literatur Farmakope Herbal Indonesia Edisi II tahun 2017 (Notoatmodjo, 2012: 182). Data yang diperoleh akan disajikan dalam bentuk tabel berdasarkan hasil pemeriksaan parameter kualitas ekstraksi.