

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Rancangan Penelitian**

Penelitian ini akan menerapkan jenis penelitian yang menggunakan metode analisis univariat (analisis deskriptif) dengan menggunakan tabel distribusi frekuensi yang memiliki tujuan memberikan penjelasan ataupun memberikan deskripsi pada karakteristik tiap variabel penelitian. Pada penelitian ini, peneliti akan melakukan evaluasi terhadap dari parameter spesifik dan parameter nonspesifik dari simplisia daun kopi robusta (*Coffea canephora*) yang berasal dari daerah Desa Kenali, Kecamatan Belalau, Kabupaten Lampung Barat, Provinsi Lampung.

#### **B. Subjek Penelitian**

Subjek dari penelitian ini ialah simplisia dari daun kopi robusta (*Coffea canephora*) yang diperoleh peneliti dari Desa Kenali, Kecamatan Belalau, Kabupaten Lampung Barat, Provinsi Lampung yang sudah dikeringkan dan dijadikan simplisia daun kopi robusta.

#### **C. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Jurusan Farmasi yaitu, di Laboratorium Kimia, Laboratorium Farmakognosi, Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Sediaan Solida di Politeknik Kementerian Kesehatan Tanjungkarang untuk melakukan uji mutu simplisia daun kopi robusta untuk diidentifikasi tanaman dan pengujian dari parameter spesifik dan nonspesifik pada Januari-Juni 2025.

#### **D. Pengumpulan Data**

##### **1. Cara Pengumpulan Data**

Pada pengumpulan data ini peneliti akan mengambil sampel daun kopi robusta (*Coffea canephora*) di Desa Kenali, Kecamatan Belalau, Kabupaten Lampung Barat, peneliti akan mengambil sampel dari daun kopi robusta yang akan dijadikan simplisia melalui proses pengeringan pada daun kopi robusta. Daun kopi robusta akan dikeringkan menggunakan alat oven pengeringan dengan suhu sebesar 50 °C sehingga daun akan menjadi kering sempurna, setelah itu daun akan dihaluskan menggunakan ayakan no. 40 mesh hingga didapatkan serbuk simplisia

sedikit halus. Setelah daun kopi robusta sudah menjadi serbuk simplisia, peneliti akan mengidentifikasi simplisia daun kopi robusta dengan menggunakan metode parameter spesifik dan nonspesifik untuk menguji mutu dari simplisia daun kopi robusta. Pengujian ini bertujuan mengetahui kandungan senyawa aktif, tingkat kemurnian, serta kualitas simplisia secara keseluruhan sebagai dasar dalam mendukung pemanfaatan daun kopi robusta sebagai bahan obat tradisional yang aman dan berkualitas.

## 2. Alat dan Bahan

### a. Alat

Alat-alat yang akan dipakai di penelitian ini ialah tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan penguap, batang pengaduk, *Erlenmeyer*, *beaker glass*, corong pisah, labu ukur, timbangan analitik, oven, pipet tetes, krus porselen tertutup, kaca arloji, mikroskop, blender, kertas saring, desikator, pengayak, tanur.

### b. Bahan

Bahan-bahan yang dipakai di penelitian ini meliputi tanaman daun kopi robusta (*Coffea canephora*), merkuri (II) klorida ( $\text{HgCl}_2$ ), bismut nitrat ( $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ ), asam klorida 37% ( $\text{HCl}$ ), etanol 96% ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ), kloroform ( $\text{CHCl}_3$ ), kloralhidrat ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{Cl}_3\text{O}_2$ ), asam asetat anhidrat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), asam nitrat ( $\text{HNO}_3$ ), besi (III) klorida, kalium iodida (KI), amil alkohol ( $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{OH}$ ), serbuk magnesium dan aquades.

## 3. Prosedur Kerja Penelitian

### a. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman adalah penetapan kebenaran sampel daun kopi robusta (*Coffea canephora*) untuk penelitian. Identifikasi ini dilakukan dengan membandingkan ciri morfologi tanaman untuk mencegah kesalahan saat mengumpulkan sampel. Determinasi tanaman ini akan dilaksanakan di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung pada Januari 2025 menggunakan sampel daun kopi robusta di Desa Kenali, Kecamatan Belalau, Kabupaten Lampung Barat, Provinsi Lampung.

b. Pembuatan Simplisia Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*)

Berikut langkah-langkah dari pembuatan simplisia pada daun kopi robusta:

- 1) Pengumpulan daun kopi robusta (*Coffea canephora*) yang pada daun yang sudah berkembang dan terletak dicabang akan menjalani proses sortasi basah. Hal ini, dilakukan untuk pemisahan daun kopi robusta dari bagian-bagian tumbuhan lain yang terbawa pada saat mengumpulkan sampel daun kopi robusta serta kotoran-kotoran maupun bahan asing lainnya yang masuk atau bahkan menempel pada permukaan daun pada saat pengambilan sampel.
- 2) Sampel daun kopi robusta yang telah dibersihkan dan dipisahkan dari kontaminan dibersihkan menggunakan air yang mengalir agar kotoran dapat terbang. Setelah daun dicuci, daun dipotong kecil-kecil menggunakan gunting untuk mempermudah pengeringan (Kementerian Kesehatan RI, 2017).
- 3) Setelah daun kopi robusta sudah melewati proses pengeringan, dilakukan kembali sortasi kering yang bertujuan memisahkan kembali daun yang sudah kering dengan benda-benda asing serta kotoran yang terbawa pada saat proses pengeringan.
- 4) Setelah daun kopi robusta kering dan disortasi, daun ditimbang untuk mengetahui bobot simplisia. Daun kemudian dihancurkan menjadi serbuk halus menggunakan blender lalu ditimbang kembali. Serbuk simplisia disimpan ke dalam kantong plastik untuk menghindari kontaminan kelembaban dan pencemaran lain (Mayasari dan Laoli, 2018:8).

4. Tahap Pasca Analitik

a. Analisis spesifik terbagi menjadi 5 bagian, yaitu:

1) Uji Fitokimia

a) Pengujian Senyawa Flavonoid

1. Sebanyak 5,0 g serbuk simplisia daun kopi robusta kemudian dilakukan penambahan 100 mL aquades panas, dilakukan pemanasan sampai mendidih selama 5 menit lalu dilakukan penyaringan ketika masih keadaan panas.
2. Filtrat simplisia daun kopi robusta yang telah didapatkan selanjutnya diambil sebanyak 5 mL lalu dilakukan penambahan 0,1 serbuk Mg, 1 mL HCl<sub>(p)</sub> dan 2 mL amil alkohol. Campuran kocok dan biarkan terpisah. Positif terkandung flavonoid apabila terjadi warna merah, jingga, dan kuning pada lapisan amil

alkohol. Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi dan berperan penting dalam aktivitas farmakologi suatu tanaman.

b) Pengujian Senyawa Alkaloid

1. Sampel simplisia daun kopi robusta sebanyak 5,0 g ditimbang di neraca analitik. Kemudian, dilakukan penambahan 1 mL HCl 2N dan 9 mL aquades.
  2. Dipanaskan di atas *waterbath* selama 2 menit kemudian dilakukan pendinginan dan disaring menggunakan kertas saring.
  3. Diambil 3 tetes filtrat kemudian dilakukan penambahan pereaksi *Mayer* sebanyak 2 tetes dengan hasil akhir endapan putih atau kuning.
  4. Diambil 3 tetes filtrat kemudian dilakukan penambahan pereaksi *Bouchardat* sebanyak 2 tetes dengan hasil akhir endapan coklat sampai hitam.
  5. Diambil 3 tetes filtrat kemudian dilakukan penambahan pereaksi *Dragendroff* sebanyak 2 tetes dengan hasil akhir merah coklat atau merah bata.
- Hasil akhir positif alkaloid apabila terjadinya endapan ataupun sedikitnya dua atau tiga dari percobaan pereaksi di atas.

c) Pengujian Senyawa Saponin

1. Sebanyak 5,0 g sampel simplisia daun kopi robusta dimasukkan ke tabung reaksi dan dilakukan penambahan 10 mL aquades panas.
2. Dilakukan pendinginan dan dilakukan pengocokan dengan kuat selama 15 menit, dilihat bentuk busa ataupun buih dalam waktu yang tidak kurang dari 10 menit dengan tinggi 1-10 cm.
3. Terdapat saponin apabila ketika penambahan 1 tetes larutan HCl 2N buih tersebut tidak hilang.

d) Pengujian Senyawa Tanin

1. Sebanyak 5,0 g serbuk simplisia daun kopi robusta ditambahkan dengan 100 mL etanol 96%.
2. Kemudian diuapkan di atas *waterbath* sampai etanol berkurang kemudian disaring larutan dengan kertas saring.
3. Diambil 2 mL larutan kemudian dilakukan penambahan pereaksi besi (III) klorida sebanyak 1 sampai 2 tetes. Terdapat tanin dilihat dari perubahan warna biru ataupun hijau kehitaman.

e) Pengujian Senyawa Terpenoid/Steroid

1. Sebanyak 5,0 g serbuk simplisia daun kopi robusta dilakukan ekstraksi metode maserasi dengan 20 mL n-heksana dalam waktu 2 jam di lemari asam, kemudian disaring (tetap dilemari asam).
2. Filtrat dilakukan penguapan di cawan penguap di dalam lemari asam, kemudian dilakukan penambahan 2 tetes pereaksi  $\text{CH}_3\text{COOH}$  dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (p).
3. Pada saat dilakukan penyaringan filtrat dilakukan cepat pada saat ditetaskan pereaksi sembari cawan goyangkan, hal ini dilakukan agar filtrat cepat menguap.
4. Adanya terpenoid atau steroid jika timbul warna ungu ataupun merah lalu terjadi perubahan menjadi hijau biru.

2) Pengujian Mikroskopis

Serbuk simplisia daun kopi robusta (*Coffea canephora*) diambil secukupnya kemudian disiapkan alat mikroskop. Pada pengujian secara mikroskopis menggunakan bantuan alat mikroskop perbesaran 400x dengan tujuan mendapatkan hasil yang lebih spesifik dan jelas. Disiapkan serbuk simplisia daun kopi robusta dengan menempatkan serbuk di atas kaca objek lalu ditetaskan larutan kloralhidrat sebanyak 2 tetes pada permukaan serbuk simplisia dan ditutup kaca objek menggunakan kaca penutup. Kemudian peneliti mengamati fragmen yang terdapat pada simplisia daun kopi robusta berdasarkan literatur yang sudah ditetapkan menggunakan mikroskop (Handayani, Apriliana, Natalia, 2019:52).

3) Pengujian Penetapan Kadar Sari Larut Air (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

- a) Ditimbang cawan kosong (W0) menggunakan timbangan analitik.
- b) Sejumlah 5,0 g simplisia dilakukan perendaman menggunakan 100 mL air kloroform (2,5 mL kloroform dalam aquades 97,5 mL) dalam waktu 24 jam di wadah yang tertutup sambil dikocok sesekali di waktu 6 jam pertama.
- c) Kemudian didiamkan kocok dalam waktu 6 jam pertama.
- d) Filtrat sebanyak 20 mL dilakukan penguapan di cawan yang telah ditara menggunakan cara didiamkan hingga pelarutnya mengalami penguapan sehingga tersisa residunya kemudian timbang (W1).
- e) Selanjutnya dilakukan pemansan terhadap residu di dalam oven di suhu 105 °C sampai bobot tetap (W2).

$$\text{Kadar Sari Larut Air} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times \frac{100}{2} \times 100\%$$

Keterangan:

W0 = bobot cawan kosong (g)

W1 = bobot simplisia awal (g)

W2 = bobot cawan + residu yang di oven

e) Penetapan Kadar Sari Larut Etanol (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

- 1) Timbang cawan kosong (W0) menggunakan timbangan analitik.
- 2) Diambil sejumlah simplisia daun kopi robusta sebanyak 5,0 g kemudian dilakukan ekstraksi metode maserasi menggunakan 100 mL etanol 96% dalam waktu 24 jam dengan alat labu ukur sambil dikocok sesekali dalam 6 jam pertama.
- 3) Lalu diamkan dalam waktu 18 jam lalu disaring cepat menggunakan kertas saring untuk mencegah etanol menguap.
- 4) Diambil filtrat sebanyak 20 mL dilakukan penguapan menggunakan cawan porselen yang sudah ditara dengan didiamkan hingga pelarutnya mengalami penguapan dan hanya tersisa residunya kemudian ditimbang (W1).
- 5) Selanjutnya dipanaskan residu di dalam oven dengan suhu 105 °C sampai bobot tetap (W2).

$$\text{Kadar sari larut etanol} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times \frac{100}{2} \times 100\%$$

Keterangan:

W0 = bobot cawan kosong (g)

W1 = bobot simplisia awal (g)

W2 = bobot cawan + residu yang di oven.

b. Analisis Nonspesifik

1) Penetapan Kadar Air (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

- a) Dimasukkan serbuk simplisia daun kopi Robusta sebanyak 1,0 g kemudian diletakkan di atas cawan kemudian dilakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 105 °C dalam waktu 30 menit.
- b) Dilakukan pendinginan dengan alat pendingin desikator dalam waktu 15 menit, jika sudah dingin dilakukan penimbangan terhadap bobot yang didapat konstan.
- c) Kemudian dihitung kadar air dengan rumus:

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

Keterangan:

A = bobot sampel sebelum dipanaskan (g)

B = bobot sampel setelah dipanaskan (g)

C = sampel (g)

2) Susut Pengeringan (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

- a) Masukkan serbuk simplisia daun kopi robusta sebanyak 1,0 g lalu ditimbang seksama dan dimasukkan ke dalam krus porselen tertutup yang sebelumnya sudah dilakukan pemanasan dengan suhu 105 °C dalam waktu 30 menit dan sudah di tara.
- b) Simplisia diratakan pada krus porselen dengan cara menggoyangkan krus sampai merata.
- c) Krus porselen kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105 °C dalam waktu 30 menit dengan keadaan tutup krus terbuka dan dilakukan pendinginan di dalam desikator.
- d) Selanjutnya ditimbang sampai bobot tetap, dan dihitung susut pengeringan menggunakan rumus:

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

Keterangan:

A = bobot sampel sebelum dipanaskan (g)

B = bobot sampel setelah dipanaskan (g)

3) Penetapan Kadar Abu Total (Kementrian Kesehatan RI, 2017).

- a) Ditimbang krus porselen kemudian dilakukan pemijaran (W0).
- b) Diambil 2 g serbuk simplisia daun kopi robusta kemudian dilakukan penimbangan seksama (W1) lalu dimasukkan ke dalam krus porselen yang sebelumnya sudah dilakukan pemijaran dan penimbangan.
- c) Pijarkan simplisia menggunakan tanur dengan perlahan-lahan sampai arang habis.
- d) Selanjutnya dilakukan penimbangan sampai bobot tetap (W2), dan dicari kadar abu menggunakan rumus:

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

Keterangan:

W0 = bobot krus kosong (g)

W1 = bobot simplisia awal (g)

W2 = bobot krus + simplisia setelah diabukan (g)

4. Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

- a) Abu yang telah didapatkan dari pengujian dari kadar abu dilakukan pemanasan hingga mendidih menggunakan 25 mL asam klorida dalam waktu 5 menit, dikumpulkan bagian yang tidak larut dengan asam.
- b) Dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring bebas abu dan residunya dibilas menggunakan air panas.
- c) Dinginkan di desikator dan dilakukan penimbangan bobot tetap (W2).
- d) Kadar abu tidak larut asam dihitung terhadap bahan yang sudah dikeringkan di udara, dan dicari kadar abu tidak larut asam dengan rumus:

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

Keterangan:

W0 = bobot krus kosong (g)

W1 = bobot simplisia awal (g)

W2 = bobot krus + abu yang tidak larut asam

## **E. Pengolahan dan Analisis Data**

### **1. Pengolahan Data**

#### **a. Editing**

Pemeriksaan ulang dilakukan terhadap data-data yang diperoleh dari hasil pengamatan. Proses pengecekan mencakup dari keseluruhan lembar pengujian, meliputi uji organoleptis, pengujian penetapan kadar sari larut air dan penetapan kadar sari larut etanol, uji fitokimia, susut pengeringan, penetapan kadar abu total, penetapan kadar air dan penetapan kadar abu tidak larut asam.



Hasil yang valid penting untuk mendukung kesimpulan akhir dalam penelitian serta memberikan kontribusi yang bermanfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang farmasi bahan alam (Notoatmodjo, 2018:176).

#### b. *Coding*

Setelah data diperiksa, langkah selanjutnya adalah pemberian kode, yaitu mengubah bentuk huruf atau kata menjadi bentuk angka untuk mempermudah proses analisis, contoh pada data uji organoleptik untuk parameter warna, dilakukan pemberian kode (Notoatmodjo, 2018:177).

Contoh kategorinya meliputi:

1 = Sedikit hijau

2 = Hijau

3 = Hijau tua

#### c. *Entrying*

Data yang sudah selesai diperiksa dan diberi kode, dimasukkan ke dalam perangkat lunak komputer untuk dilakukan proses pengolahan data. Setiap kode evaluasi, yang meliputi organoleptik, senyawa yang larut dalam pelarut tertentu, kandungan senyawa kimia, berat jenis, kadar air, kadar abu total, dan kadar abu tidak larut asam, diterapkan pada data sebelum dianalisis untuk menentukan persentase (Notoatmodjo, 2018:177).

#### d. *Tabulasi*

Setelah analisis data, hasil hasilnya disajikan dalam bentuk tabel. Data pada program komputer yang digunakan untuk pengolahan tabel disusun dalam bentuk tabel untuk memudahkan dalam proses analisis (Notoatmodjo, 2018:179).

### 2. Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini dilaksanakan dengan metode analisis univariat secara deskriptif analitik. Metode ini menyajikan hasil rata-rata penilaian dari setiap variabel untuk menghasilkan distribusi frekuensi dan persentase dari masing-masing variabel dibagi menjadi parameter mutu spesifik dan nonspesifik. Hasil analisis kemudian akan dibandingkan dengan referensi literatur. Data yang sudah didapatkan akan disajikan dalam bentuk tabel sesuai dengan hasil pengujian parameter mutu simplisia. Analisis ini diharapkan mampu memberikan

gambaran objektif mengenai kualitas simplisia daun kopi robusta (*Coffea canephora*), dari aspek kandungan senyawa aktif maupun karakteristik fisik dan kimianya (Notoatmodjo, 2018:180-183).