

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah non eksperimental dengan metode deskriptif analitik, yaitu mendeskripsikan pengujian mutu ekstrak daun Beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less).

B. Subjek Penelitian

Subjek pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun Beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) yang diperoleh di desa Pulau Panggung kecamatan Abung Tinggi kabupaten Lampung Utara.

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Laboratorium Steril Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Tanjungkarang untuk melakukan uji mutu ekstrak berdasarkan parameter standarisasi mutu ekstrak pada simplisia daun beluntas. Waktu penelitian ini yaitu Februari – Mei tahun 2022.

D. Pengumpulan Data

1. Cara Pengumpulan Data

Pada penelitian ini Pengumpulan data diambil berdasarkan pengujian parameter simplisia, meliputi :

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

2. Alat dan Bahan

a) Alat

Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian ini adalah botol (bejana) maserasi, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan penguap, batang pengaduk, piknometer, timbangan analitik, labu ukur, oven, pipet tetes, gelas ukur, erlenmeyer, corong, dan tanur.

b) Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak etanol 96% daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less), kapas, kertas saring, kloroform, n-heksana, FeCl_3 , pereaksi Mayer, pereaksi Bourchardat, pereaksi Dragendorf, HCl pekat, HCl 2 N, H_2SO_4 pekat, H_2SO_4 encer, asetat anhidrat, amil alkohol dan serbuk Mg.

3. Prosedur Kerja Penelitian

1) Pembuatan Simplisia Daun Beluntas

- 1) Diambil daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) segar.
- 2) Dilakukan sortasi basah untuk memisahkan daun beluntas segar (*Pluchea indica* (L.) Less) dari kotoran maupun benda asing.
- 3) Dicuci daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) menggunakan air mengalir.
- 4) Dirajang daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) untuk memperkecil ukuran daun.
- 5) Diletakkan daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) yang telah dirajang di atas nampan dan ditutup menggunakan kain hitam kemudian dijemur di bawah sinar matahari sampai kering.
- 6) Dilakukan sortasi kering daun beluntas untuk memisahkan simplisia dari benda-benda asing maupun kotoran.
- 7) Diperhalus simplisia daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) menggunakan blender.
- 8) Simplisia kering yang sudah menjadi serbuk diayak menggunakan pengayak nomor 40.

2) Pembuatan ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less)

Jenis ekstraksi yang digunakan adalah maserasi, dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- 1) Dimasukkan 100 g simplisia daun beluntas kedalam bejana berwarna gelap/dalam wadah tertutup.
- 2) Kemudian direndam dengan 1000 ml pelarut etanol 96% dengan perendaman pertama sebanyak 700 ml.
- 3) Lalu bejana ditutup menggunakan aluminium foil dan dibiarkan selama 3 hari didalam ruangan yang terlindung dari cahaya, sambil diaduk sebanyak 1 kali dalam sehari. Satu kali pengadukan dilakukan selama \pm 5 menit.
- 4) Setelah 3 hari, saring sarinya dan ampas dari hasil maserasi dilakukan remaserasi dengan direndam dengan sisa dari pelarut etanol 96% sebanyak 300 ml selama 2 hari.
- 5) Disaring hasil filtrat remaserasi kemudian digabung dengan hasil filtrat maserasi pertama.
- 6) Lalu filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental Daun Beluntas.

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

3) Identitas

Pendeskripsian tata nama yaitu nama ekstrak, nama latin tumbuhan, bagian tumbuhan yang digunakan dan nama Indonesia tumbuhan (Depkes RI, 2000).

- 4) Pengujian organoleptik terhadap ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) berdasarkan bau, rasa, warna dan bentuk. Pengujian organoleptik merupakan pengenalan secara fisik dengan menggunakan panca indera dalam mendeskripsikan bau (aromatik, tidak berbau, dan lain-lain), bentuk (padat, kental, cair, dan lain-lain), rasa (pahit, kelat, manis, dan lain-lain) dan warna (hijau pekat, coklat, kuning, dan lain-lain).

- 5) Pengujian kadar sari larut air terhadap ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) (Depkes RI, 2000)
- 1) Timbang cawan kosong (W0) dengan timbangan analitik.
 - 2) Sejumlah 5,0 g ekstrak dimaserasi dengan 100 ml air jenuh kloroform selama 24 jam, menggunakan labu ukur sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama.
 - 3) Kemudian didiamkan selama 18 jam dan saring.
 - 4) Filtrat sebanyak 20 ml diuapkan dalam cawan yang telah ditara dengan cara didiamkan sampai pelarutnya menguap dan tersisa residunya lalu ditimbang (W1).
 - 5) Kemudian panaskan residu didalam oven pada suhu 105°C hingga bobot tetap (W2).

$$\text{Kadar sari larut air} = \frac{W2 - W0}{W1} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 = bobot cawan kosong

W1 = bobot ekstrak awal

W2 = bobot cawa + residu yang dioven

- 6) Pengujian kadar sari larut etanol terhadap ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) (Depkes RI, 2000)
- 1) Timbang cawan kosong (W0) dengan timbangan analitik.
 - 2) Sejumlah 5,0 g ekstrak dimaserasi dengan 100 ml etanol 95% selama 24 jam, menggunakan labu ukur sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama.
 - 3) Kemudian didiamkan selama 18 jam dan saring cepat untuk menghindari penguapan etanol.
 - 4) Filtrat sebanyak 20 ml diuapkan dalam cawan yang telah ditara dengan cara didiamkan sampai pelarutnya menguap dan tersisa residunya lalu ditimbang (W1).
 - 5) Kemudian panaskan residu didalam oven pada suhu 105°C hingga bobot tetap (W2).

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

Keterangan :

W0 = bobot cawan kosong

W1 = bobot ekstrak awal

W2 = bobot cawan + residu yang dioven

7) Uji kandungan kimia yang terdapat pada simplisia dan ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) (Marjoni, 2016:8-13)

1) Identifikasi Alkaloid

- a) Sampel ditimbang sebanyak 0,5 g kemudian ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling.
- b) Dipanaskan di atas tangas air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring.
- c) Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer menghasilkan endapan putih /kuning.
- d) Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat menghasilkan endapan coklat-hitam.
- e) Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendrof menghasilkan endapan merah bata
Alkaloida dianggap positif jika terjadi endapan atau paling sedikit dua atau tiga dari percobaan di atas.

2) Identifikasi Flavonoid

- a) Sebanyak 10 g sampel kemudian ditambahkan 100 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. Flavonoida positif jika terjadi warna merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol.

3) Identifikasi Saponin

- a) Sebanyak 0,5 g sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 ml air suling panas.
- b) Dinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik Terbentuk buih atau busa yang selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm.

Adanya saponin jika pada penambahan 1 tetes larutan asam klorida 2 N apabila buih tidak hilang.

- 4) Identifikasi Tannin
 - a) Sebanyak 0,5 g sampel disari dengan 10 ml air suling, disaring
 - b) Filtratnya diencerkan dengan air suling sampai tidak berwarna.
 - c) Diambil 2 ml larutan lalu ditambahkan 1 sampai 2 tetes pereaksi besi (III) klorida. Adanya tanin ditunjukkan dengan warna biru atau hijau kehitaman.
- 5) Identifikasi Steroid dan Triterpenoid
 - a) Sebanyak 1 g sampel di maserasi dengan 20 ml n-heksana selama 2 jam, lalu disaring.
 - b) Filtrat diuapkan dalam cawan penguap.
 - c) Pada sisa ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat.
 - d) Amati warna yang timbul dan perubahannya Adanya steroid triterpenoid ditunjukkan dengan timbulnya warna ungu atau merah kemudian berubah menjadi hijau biru.
- 8) Pengujian susut pengeringan ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) (Depkes RI, 2000)
 - 1) Masukkan 1 gram ekstrak dan timbang seksama dalam krus porselen bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C dan telah ditara.
 - 2) Krus dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 30 menit dalam keadaan tutup krus terbuka dan dinginkan dalam desikator.
 - 3) Kemudian timbang hingga bobot tetap.

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

Keterangan :

A = Bobot sampel sebelum dipanaskan (g)

B = Bobot sampel setelah dipanaskan (g)

9) Pengujian kadar air ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) (Depkes RI, 2000)

- 1) Masukkan 1 gram ekstrak dan timbang seksama dalam wadah yang telah ditara.
- 2) Keringkan dalam oven dengan suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang.
- 3) Kadar air dihitung dalam persen terhadap berat awal.

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

Keterangan :

A = Bobot sampel sebelum dipanaskan (g)

B = Bobot sampel setelah dipanaskan (g)

10) Pengujian kadar abu ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) (Depkes RI, 2000)

- 1) Timbang krus porselen lalu dipijarkan (W0).
- 2) Sebanyak 2-3 g ekstrak ditimbang seksama (W1) masukkan dalam krus porselen yang sebelumnya telah dipijarkan dan ditimbang.
- 3) Pijarkan ekstrak dengan menggunakan tanur secara perlahan-lahan hingga arang habis.
- 4) Kemudian timbang hingga bobot tetap (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)

11) Pengujian kadar abu tidak larut asam ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indica* (L.) Less) (Depkes RI, 2000)

- 1) Abu yang akan diperoleh pada pengujian kadar abu dididihkan dengan 25 ml asam sulfat encer selama 5 menit, kumpulkan bagian yang tidak larut asam.

- 2) Saring dengan kertas saring bebas abu dan residunya dibilas dengan air panas.
- 3) Abu yang akan tersaring dan kertas saringnya dimasukkan kembali dalam krus porselen.
- 4) Pijarkan ekstrak dengan menggunakan tanur secara perlahan-lahan hingga arang habis.
- 5) Kemudian timbang hingga bobot tetap (W2).

$$\% \text{Kadar Abu Tidak Larut Asam} = \frac{W2 - (C \times 0,0076) - W0}{W1} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 = bobot krus kosong (gram)

C = bobot kertas saring (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*

Pengecekan kembali data yang diperoleh dari hasil pengamatan. Pengecekan dilakukan terhadap semua lembar pengujian yang meliputi, uji organoleptik, Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu, uji kandungan senyawa kimia, bobot jenis, penetapan kadar air, penetapan kadar abu total dan penetapan kadar abu tidak larut asam dengan memeriksa kelengkapan data untuk diproses lebih lanjut (Notoatmodjo, 2012:176).

b. *Coding*

Setelah data diedit, dilakukan pengkodean yakni merubah bentuk kalimat atau huruf menjadi angka atau bilangan yang dimaksudkan untuk memudahkan dalam melakukan analisis. Seperti data organoleptik warna dilakukan dengan pengkodean 1= agak hijau, 2= hijau muda, 3= hijau tua (Notoatmodjo, 2012:177).

c. *Entrying*

Data yang telah selesai di editing dan coding selanjutnya dimasukkan kedalam program komputer untuk dilakukan analisis. Data dimasukkan ke dalam program komputer pengolah tabel dan data dimasukkan dengan kode yang sudah diberikan untuk masing-masing evaluasi, seperti organoleptik, Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu, kandungan senyawa kimia, bobot jenis, penetapan kadar air, penetapan kadar abu total dan penetapan kadar abu tidak larut asam lalu dianalisis untuk mendapatkan presentase (Notoatmodjo, 2012:177).

d. Tabulasi

Setelah data dianalisis, hasil yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel. Data pada program komputer pengolah tabel dan data dibuat dalam bentuk tabel agar mempermudah dalam menganalisis (Notoatmodjo, 2012:179).

2. Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini dilakukan menggunakan analisis univariat dengan cara deskriptif analitik. Analisis ini menampilkan hasil penilaian rata – rata dari masing – masing variabel untuk menghasilkan distribusi frekuensi dan persentasi dari tiap – tiap variabel, yaitu berdasarkan parameter mutu ekstrak spesifik seperti identitas, organoleptik, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol dan uji kandungan kimia serta non spesifik seperti susut pengeringan, kadar air, kadar abu, dan kadar abu tidak larut asam yang akan dibandingkan dengan literatur (Notoatmodjo, 2012:182). Data yang didapat akan disajikan dalam bentuk tabel berdasarkan hasil pengujian parameter mutu ekstrak.