

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh metode pengeringan kering angin dan oven terhadap karakteristik simplisia bunga kecombrang. Penelitian ini dilakukan dalam tiga tahapan meliputi:

1 Tahapan Persiapan

Tahap persiapan dalam penelitian ini meliputi objek penelitian, mempersiapkan prosedur kerja, persiapan alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian.

2 Tahapan Pelaksanaan

Tahap pelaksanaan dalam penelitian ini membuat simplisia bunga kecombrang, penentuan kadar air, penentuan kadar sari larut air dan etanol, penentuan pola kromatografi, penentuan kadar flavonoid total.

3 Tahap Akhir.

Pada tahap ini dilakukan pengolahan analisis data yang diperoleh berdasarkan dari hasil penelitian.

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah bahan segar bunga kecombrang yang dibuat menjadi simplisia bunga kecombrang.

3.2.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah sebagian dari simplisia bunga kecombrang dari metode pengeringan kering angin dan pengeringan oven.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Instrumen Akademi Analis Farmasi dan Makanan Putra Indonesia Malang, dan waktu penelitian yang dibutuhkan mulai tahap persiapan, pelaksanaan, dan pengujian mulai dari Februari – April 2022

3.4 Definisi Operasional

Variabel dalam penelitian ini meliputi variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah Metode pengeringan simplisia bunga kecombrang dan variabel terikat dalam penelitian ini adalah karakteristik bunga kecombrang.

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

Sub Variabel	Definisi Operasional Variabel	Hasil ukur	Alat ukur	Skala ukur
Penge ringan kering angin	Proses pengeringan simplisia bunga kecombrang dengan dikeringkan pada suhu ruang dan udara segar	%	Timba ngan kasar	Nominal
Penge ringan oven	Proses pengeringan simplisia kecombrang dengan cara dipanaskan melalui perambatan panas dari sumber panas ke permukaan bahan	%	Timba ngan kasar	Nominal
Organo leptik	Keadaan fisik teh bunga kecombrang yang meliputi bentuk, warna, bau, dan rasa.	Bentuk warna, bau, rasa	Visual	Ordinal
Makros kopik	Menentukan ciri khas visual dari simplisia bunga kecombrang	Bentuk (morfo logi)	Visual	Ordinal
Mikros kopik	Mengamati bagian atau fragmen pengenal dalam bentuk sel atau jaringan	Frag men	Mikros kop	Ordinal
Kadar air	Jumlah kandungan air yang terkandung dalam simplisia bunga kecombrang	%	Neraca anali tik	Nominal
Kadar sari larut air	Banyaknya kandungan senyawa yang larut dalam air pada simplisia bunga kecombrang	%	Neraca anali tik	Nominal
Kadar sari larut etanol	Banyaknya kandungan senyawa yang larut dalam etanol pada simplisia bunga kecombrang	%	Neraca anali tik	Nominal
Pola kromato grafi	Proses pemisahan senyawa metabolit sekunder (flavonoid) simplisia bunga kecombrang secara kualitatif	Rf (noda)	Plat KLT	Nominal
Kadar flavonoid total	Jumlah kandungan total senyawa flavonoid pada simplisia bunga kecombrang	%	Spek trofo to meter UV-Vis	Nominal

3.5 Pengumpulan Data

3.5.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan batang pengaduk, cawan penguap, plat tetes, gelas ukur, beaker glass, bola hisap, corong, desikator, mikroskop, erlenmeyer, labu ukur, oven kompor, penangas air listrik, cawan krus, chamber, loyang, kuvet, spektrofotometer UV-Vis, penjepit tabung, pipet volume, spatula dan timbangan analitik, *magnetic stirrer*, statif, *hot plate*.

Bahan yang digunakan adalah akuades, etanol, bunga kecombrang, kloroform, floroglusin HCl, sitroborat, methanol p.a, etanol p.a, plat silica gel 254 nm, kuersetin, kertas saring, alumunium klorida, natrium asetat.

3.5.2 Pengambilan Sampel

Sampel bunga kecombrang mekar diperoleh dari Tulungagung.

3.5.3 Pembuatan Simplisia

- 1 Disiapkan alat dan bahan untuk pembuatan teh herbal bunga kecombrang.
- 2 Dipisahkan bahan baku dengan bahan pengotor yang mengganggu.
- 3 Dicuci bunga kecombrang yang akan dibuat menjadi simplisia dengan air bersih dan mengalir kemudian ditiriskan
- 4 Dikeringkan bunga kecombrang tersebut sampai benar-benar kering dengan menggunakan metode pengeringan kering angin dan metode pengeringan oven
- 5 Setelah dikeringkan, dilakukan pemisahan dengan bahan pengotor.
- 6 Dikemas simplisia dalam wadah tertutup.

3.5.4 Organoleptis (Depkes RI, 2008)

- 1 Diambil serbuk simplisia
- 2 Diamati bentuk, warna, bau, dan rasa pada serbuk simplisia.

3.5.5 Makroskopik (Depkes RI, 2008)

- 1 Diambil simplisia kering
- 2 Diamati ciri-ciri luar simplisia yang meliputi bentuk morfologi dan tekstur dengan menggunakan kaca pembesar atau tanpa menggunakan alat.

3.5.6 Mikroskopik (Depkes RI, 2008)

- 1 Diambil serbuk simplisia
- 2 Ditempatkan serbuk simplisia ke dalam kaca preparat
- 3 Ditambahkan dengan larutan floroglusin HCl kemudian dipanaskan pada bunsen
- 4 Diamati dengan bantuan alat mikroskop pada perbesaran 10x untuk mengamati anatomi jaringan atau fragmen yang khas pada serbuk simplisia tersebut.

3.5.7 Penetapan Kadar Air (Depkes RI, 2008)

- 1 Ditimbang 1 g zat dalam botol timbang dangkal bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C penetapan selama 30 menit dan telah ditara, jika zat berupa hablur besar, sebelum ditimbang digerus dengan cepat hingga ukuran butiran lebih kurang 2 mm.
- 2 Kemudian diratakan zat dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol, hingga merupakan lapisan setebal lebih kurang 5 mm sampai 10 mm.

- 3 Dimasukkan ke dalam ruang pengering, dibuka tutupnya, dikeringkan pada suhu penetapan hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, biarkan botol dalam keadaan tertutup mendingin dalam desikator hingga suhu kamar. Jika suhu lebur suatu zat lebih rendah dari suhu penetapan, pengeringan dilakukan pada suhu antara 5° dan 10° dibawah suhu leburnya selama 1 jam sampai 2 jam, kemudian pada suhu penetapan selama waktu yang ditentukan atau hingga bobot tetap

$$\% \text{ kadar air} = \frac{\text{bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{bobot awal}} \times 100\%$$

3.5.8 Penetapan Kadar Sari larut Air (Depkes RI, 2008)

- 1 Ditimbang 5 gram serbuk simplisia
- 2 Dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL air kloroform P menggunakan labu bersumbat sambil dikocok selama 6 jam pertama
- 3 Dibiarkan selama 18 jam, disaring.
- 4 Diambil 20 mL filtrat dari 100mL maserat dan diuapkan hingga kering dalam cawan penguap, residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap.
- 5 Dihitung kadar dalam persen sari yang larut dalam air

$$\% \text{ kadar sari larut air} = \frac{(\text{bobot filtrat} + \text{krus}) - \text{bobot krus kosong}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

3.5.9 Penetapan Kadar Sari Larut Etanol (Depkes RI, 2008)

- 1 Ditimbang 5 gram serbuk simplisia kemudian dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL etanol 95% menggunakan labu bersumbat sambil dikocok selama 6 jam pertama

- 2 Dibiarkan selama 18 jam, disaring. Diambil 20mL filtrat dari 100mL maserat dan diuapkan hingga kering dalam cawan penguap, residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap.
- 3 Dihitung kadar dalam persen sari yang larut dalam etanol

$$\% \text{ kadar sari larut etanol} = \frac{(\text{bobot filtrat+krus}) - \text{bobot krus kosong}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

3.5.10 Penetapan Pola Kromatografi (Depkes RI, 2017)

3.5.10.1 Penjenuhan Bejana

- 1 Ditempatkan kertas saring dalam bejana kromatografi
- 2 Dimasukkan sejumlah fase gerak ke dalam bejana kromatografi, hingga tingginya 0,5 cm dari dasar bejana. Fase gerak yang digunakan adalah kloroform:methanol:air (60:20:14)
- 3 Ditutup dan dibiarkan hingga kertas saring terbasahi seluruhnya. Kertas saring harus selalu tercelup ke dalam fase gerak pada dasar bejana

3.5.10.2 Larutan Uji KLT (5% dalam metanol)

- 1 Ditimbang seksama kurang lebih 0,125g simplisia
- 2 Direndam sambil dikocok diatas penangas air dengan 2,5 mL pelarut etanol selama 10 menit kemudian menyaring dengan menggunakan kertas saring.

3.5.10.3 Prosedur KLT

- 1 Ditotolkan larutan uji, larutan pembanding (Kuersetin 0,1% dalam etanol P), serta campuran larutan uji dan larutan pembanding, ditotolkan dengan jarak antara 1,5 cm sampai 2 cm dari tepi bawah lempeng, dan dibiarkan mengering. Menggunakan pipa kapiler atau alat sablon untuk menentukan

tempat penotolan dan jarak rambat, kemudian memberi tanda pada jarak rambat.

- 2 Dimasukkan lempeng pada bejana kromatografi. Fase gerak dalam bejana harus mencapai tepi bawah lapisan penjerap, tolotan jangan sampai terendam.
- 3 Diletakkan tutup bejana pada tempatnya dan membiarkan fase gerak merambat sampai batas jarak rambat.
- 4 Dikeluarkan lempeng dan dikeringkan di udara, dan diamati bercak dengan sinar tampak ultraviolet 366 nm, dan dengan penampak bercak sitroborat.
- 5 Diukur dan dicatat tiap bercak dari titik penotolan.
- 6 Dihitung harga Rf

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh noda}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}}$$

3.5.11 Penetapan Kadar Flavonoid Total (Depkes RI, 2017)

3.5.11.1 Pembuatan Larutan Induk Sampel

- 1 Ditimbang seksama kurang lebih 1 g serbuk simplisia, dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer.
- 2 Ditambahkan 25 mL etanol p.a. Lalu di ekstraksi selama 1 jam dengan pengaduk magnetik.
- 3 Disaring ke dalam labu ukur 25 mL, lalu dibilas dengan etanol p.a dan ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas

3.5.11.2 Pembuatan Larutan Induk Kuersetin

- 1 Ditimbang seksama kurang lebih 10 mg kuersetin kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas yang diperoleh konsentrasi 400 ppm
- 2 Dibuat seri pengenceran larutan dengan konsentrasi berturut-turut 16, 24, 32, 40. 48 $\mu\text{g/mL}$

3.5.11.3 Pembuatan Larutan Alumunium Klorida 10%

- 1 Ditimbang sebanyak 2,5 g Alumunium klorida
- 2 Dilarutkan dalam 25 mL etanol

3.5.11.4 Pembuatan Larutan Natrium Asetat 1 M

- 1 Ditimbang 6,8 gram natrium asetat
- 2 Dilarutkan dan diencerkan dalam labu ukur 50 mL dengan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan

3.5.11.5 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

- 1 Diambil salah satu konsentrasi larutan baku
- 2 Diukur serapannya pada rentang panjang gelombang 400-800 nm. Panjang gelombang yang menunjukkan nilai serapan tinggi merupakan panjang gelombang maksimum

3.5.11.6 Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

- 1 Kurva baku dibuat dengan menghubungkan konsentrasi larutan standar dengan hasil serapannya yang diperoleh dari pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer ultravioletvisible (UV-VIS) pada panjang

gelombang maksimum (serapan pada ordinat dan konsentrasi rutin pada absis)

3.5.11.7 Prosedur Kadar Flavonoid Total

- 1 Dipipet secara terpisah 0,5 mL larutan induk sampel dan masing-masing larutan seri 16, 24, 32, 40. 48 µg/mL ke dalam wadah yang sesuai
- 2 Ditambahkan pada masing-masing 1,5 mL etanol p.a, 0,1 mL alumunium klorida 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 2,8 mL air.
- 3 Dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang.
- 4 Diukur serapan atau absorbansi pada panjang gelombang serapan maksimum
- 5 Dilakukan pengukuran blanko dengan cara yang sama tanpa penambahan alumunium klorida dan natrium asetat
- 6 Dihitung kadar flavonoid total

3.6 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan setelah data terkumpul, kemudian dikelompokkan sesuai variabel yang diteliti. Analisis yang dilakukan sebagai berikut :

1. Mendeskripsikan dan membandingkan hasil pengamatan uji organoleptis, uji makroskopik, dan uji mikroskopik dengan menggunakan tabel
2. Mengukur dan membandingkan hasil uji metode pengeringan kering angin dan oven kompor terhadap karakteristik (kadar air, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, pola kromatografi, dan kadar flavonoid total) dengan penentuan uji

diulang tiga kali yang selanjutnya ditentukan standar deviasinya lalu dibandingkan dengan standar acuan Farmakope Herbal Indonesia.

3. Mengolah data yang berskala ukur nominal dengan menggunakan metode uji *independent sample T-test* pada SPSS untuk mengetahui pengaruh metode pengeringan kering angin dan oven kompor terhadap karakteristik simplisia bunga kecombrang