

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif observasional dengan menggunakan pemeriksaan laboratorium secara kualitatif dan kuantitatif.

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Universitas Borneo Lestari, Laboratorium FMIPA Universitas Lambung Mangkurat serta di BSPJI (Balai Standardisasi dan Pelayanan Jasa Industri Banjarbaru), Kalimantan Selatan pada bulan Februari - Mei 2024.

#### **3.3 Populasi dan Sampel**

##### **3.3.1 Populasi**

Populasi pada penelitian ini adalah tumbuhan Kalangkala (*Litsea angulata* Bl.) yang di peroleh dari Desa Sirih, Kecamatan Kalumpang, Kabupaten Hulu Sungai Selatan, Provinsi Kalimantan Selatan.

##### **3.3.2 Sampel**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl.).

### 3.4 Variabel Penelitian

Variabel-variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu :

- a) Variabel bebas pada penelitian ini adalah Daun Kalangkala (*Litsea angulata* BI.) asal Kalimantan Selatan
- b) Variabel terikat pada penelitian ini adalah karakterisasi Daun Kalangkala (*Litsea angulata* BI.) seperti identitas simplisia, mikroskopik, kromatografi lapis tipis, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam dan susut pengeringan

### 3.5 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven (*Thermo scientific*®), blender, ayakan nomor 40 (*Pharmalab*®), labu alas bulat (*Pyrex*®), *water bath*, *rotary evaporator*, kondensor (*Pyrex*®), selang air, corong pemisah, cawan penguap, mikroskop, pinset, mikro pipet (*OneMed*®), objek glass, cover glass, pipet tetes, plat silika gel<sub>60</sub> GF<sub>254</sub>, pipet kapiler, chamber, penyemprot pereaksi, sinar UV, timbangan analitik (*Scount Pro*®), batang pengaduk, labu bersumbat, kertas saring, *water bath* (*Memmert*®), buret, *moisture balance*, tanur (*Nabertherm*®), *stopwatch*.

#### 3.5.2 Bahan

Bahan - bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *aquadest*, *imersion oil*, kloralhidrat, *kuersetin*, n – heksan, etil asetat,

metanol, etanol 96%,  $\text{AlCl}_3$ , air jenuh kloroform, etanol *p*, air suling, daun Kalangkala (*Litsea angulata* BI.).

### **3.6 Prosedur Penelitian**

#### **3.6.1 Pengambilan Sampel**

Daun Kalangkala (*Litsea angulata* BI.) diambil di desa Sirih, Kecamatan Kalumpang, Kabupaten Hulu Sungai Selatan, Provinsi Kalimantan Selatan pada bulan Desember tahun 2023. Daun Kalangkala yang diambil adalah daun tua dan dilakukan pada jam 9-10 pagi waktu setempat (Hariyati, 2023).

#### **3.6.2 Determinasi Sampel**

Determinasi dilakukan dengan tujuan untuk mempertegas serta mengetahui ketepatan identitas dari simplisia, dilihat dari bagian buah, daun, akar dan batang. Determinasi sampel simplisia daun Kalangkala dilakukan di Fakultas MIPA, Universitas Lambung Mangkurat, Kalimantan Selatan.

#### **3.6.3 Pembuatan Simplisia**

Tahapan proses pembuatannya yaitu sebanyak 2 kg daun Kalangkala (*Litsea angulata* BI.) disortasi basah, lalu dicuci menggunakan air mengalir untuk memisahkan benda asing yang melekat di bagian daun, kemudian dilakukan perajangan daun Kalangkala (*Litsea angulata* BI.) untuk memperkecil ukuran yang sama agar membantu mempercepat proses pengeringan, kemudian dilakukan pengeringan dengan cara di oven  $45^\circ\text{C}$  (Amalia *et al.*, 2023) langkah

berikutnya adalah melakukan sortir kering untuk memisahkan bagian tumbuhan yang terdapat pada bagian simplisia yang akan digunakan. Kemudian dihaluskan menggunakan blender untuk mendapatkan serbuk yang sesuai. Kemudian serbuk di ayak menggunakan mesh no. 40 dan ditimbang (Amelia & Primiani, 2023). Rendemen dihitung dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\% \text{ Rendemen Simplisia} = \frac{\text{bobot total simplisia (g)}}{\text{bobot total daun segar (g)}} \times 100 \%$$

(Lestari *et al.*, 2023)

#### **3.6.4 Ekstraksi Daun Kalangkala (*Litsea angulata* BI.) untuk pengujian**

##### **KLT**

Pembuatan ekstrak daun kalangkala (*Litsea angulata* BI.) dibuat dengan cara maserasi yaitu 50 gram simplisia daun kalangkala ditimbang dan dimasukkan ke dalam wadah, kemudian direndam dalam 500 ml etanol 96% selama 3x24 jam sambil sesekali diaduk. Setelah proses maserasi, hasilnya disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan maserat dari residu. Maserat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 45°C. (Mardlatillah, 2022) kemudian dipekatkan diatas *waterbath* hingga didapatkan ekstrak kental (Amalia *et al*, 2022). Langkah berikutnya adalah melakukan perhitungan persentase rendemen ekstrak dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{bobot ekstrak kental (g)}}{\text{bobot serbuk yang digunakan (g)}} \times 100\%$$

(Lestari *et al.*, 2023)

### 3.7 Karakterisasi Spesifik

#### a. Identitas Simplisia

Identitas Simplisia meliputi nama simplisia, nama latin, nama Indonesia, bagian tanaman yang digunakan, warna, rasa dan bau. Organoleptik bau dinyatakan “tidak berbau”, “praktis tidak berbau”, “bau khas lemah”, “bau khas”, Ditentukan dengan melakukan pemeriksaan sesudah bahan terkena paparan pada suhu ruang dalam waktu 15 menit. Waktu diukur dengan membuka wadah yang mengandung tidak lebih dari 25 gram bahan. Untuk wadah yang berisi lebih dari 25 gram bahan, penilaian dilakukan setelah sekitar 25 gram bahan dipindahkan ke dalam cawan penguap berukuran 100 ml. Aroma yang dijelaskan bersifat deskriptif dan tidak dapat dijadikan sebagai standar kemurnian dari bahan yang bersangkutan. (Depkes RI, 2017). Uji organoleptik berupa bau, warna dan rasa menggunakan panelis sebanyak 5 orang.

#### b. Mikroskopis Simplisia Daun Kalangkala

Pengamatan mikroskopik terdiri dari pemeriksaan bagian simplisia dan identifikasi fragmen seperti sel, isi sel, atau jaringan tanaman. Fragmen pengenal seperti epidermis, stomata, rambut penutup, kristal kalsium oksalat, dan berkas pengangkut diamati dengan menempatkan serbuk simplisia di atas kaca objek, lalu menambahkan 1 atau 2 tetes kloralhidrat, kemudian menutupnya

dengan kaca penutup. Serbuk simplisia daun Kalangkala yang dilakukan pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 40x dan 100x (Depkes RI, 2017).

c. Pola Kromatogram Lapis Tipis

Penentuan Kromatogram Lapis Tipis dikerjakan menggunakan fase diam yakni plat silika gel 60 GF<sub>254</sub>. Ekstrak daun Kalangkala ditotolkan pada lempeng silica bersamaan dengan larutan standar yaitu kuersetin dengan menggunakan pipa kapiler yang ditempatkan 1 cm dari garis bawah. Pengujian ini menggunakan fase gerak yaitu n-heksan : metanol, untuk ekstrak digunakan perbandingan 5 : 5 sedangkan untuk pembanding kuersetin 3 : 7. Dimasukkan plat kedalam chamber dan fase gerak yang sudah dijenuhkan sebelumnya. Setelah fase gerak mencapai jarak maksimum, plat diambil dari chamber dan dikeringkan. Kemudian dihitung nilai Rf (*Retardation factor*) dengan rumus :

$$Rf = \frac{\text{jarak rambat yang ditempuh}}{\text{jarak rambat yang ditempuh fase gerak}}$$

(Astuti *et al.*, 2023)

d. Kadar Sari Larut Dalam Air

Serbuk seberat 5 gram ditimbang dan kemudian dilarutkan dalam 100 ml air jenuh kloroform dalam labu bersumbat. Selama 6 jam pertama, larutan dikocok secara berulang, lalu didiamkan selama 18 jam dan disaring dengan menggunakan kertas saring. Setelah itu, 20 ml filtrat diuapkan dalam cawan penguap yang telah dipanaskan

hingga suhu 105°C hingga kering untuk meninggalkan residu. Residu tersebut kemudian dipanaskan kembali pada suhu 105°C hingga bobotnya konstan (Depkes RI, 2000). Rumus kadar sari larut air, yaitu :

$$\text{kadar senyawa larut air} = \frac{\text{berat konstan} - \text{berat cawan kosong}}{\text{berat sampel}} \times fp \times 100$$

Keterangan :

*fp* = Faktor pengenceran

(Pine *et al.*, 2023)

e. Kadar Senyawa Larut dalam Etanol

Sebanyak 5gram serbuk ditimbang, kemudian larutkan dalam 100 ml etanol p dalam labu bersumbat. Selama 6 jam pertama, larutan tersebut dikocok secara berkala, lalu didiamkan selama 18 jam. Setelah itu, saring larutan dengan cepat menggunakan kertas saring untuk mencegah penguapan etanol. Kemudian, evaporasi 20 ml filtrat dalam cawan penguap yang telah dipanaskan hingga kering pada suhu 105°C. Residu yang tersisa dipanaskan kembali pada suhu 105°C hingga bobotnya stabil (Depkes RI, 2000)). Rumus kadar sari larut etanol 96%, yaitu :

$$\text{kadar sari larut etanol} = \frac{\text{berat konstan} - \text{berat cawan kosong}}{\text{berat sampel}} \times fp \times 100$$

Keterangan :

*fp* = faktor pengenceran

(Pine *et al.*, 2023)

### 3.8 Karakterisasi Non Spesifik

#### a. Kadar Abu Total

Untuk mengukur kadar abu, ambil 3 gram simplisia dan letakkan ke dalam sebuah cawan porselen yang sudah memiliki bobot yang diketahui. Tempatkan di atas nyala pembakar, kemudian bakar dalam tanur listrik pada suhu maksimum 550°C sampai terjadi pengabuan sempurna. Setelah itu, biarkan dingin dalam desikator dan timbang sampai bobotnya stabil. Kadar abu total dihitung sebagai persentase berat dari bahan uji (Depkes RI, 2017).

$$\text{Kadar abu} = \frac{w_1 - w_2}{w} \times 100\%$$

Keterangan :

$w$  = bobot simplisia (g)

$w_1$  = bobot akhir (g)

$w_2$  = bobot cawan kosong (g)

(Utami *et al*, 2021)

#### b. Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu yang dihasilkan selama penentuan kadar abu total direaksikan dengan 25 ml asam klorida encer LP yang dididihkan selama 5 menit. Setelah itu, larutan disaring menggunakan kertas saring yang tidak mengandung abu dan dicuci dengan air suling hingga tidak mengandung klorida. Kertas saring kemudian dikeringkan dalam oven, dimasukkan ke dalam cawan porselen yang bobotnya sudah diketahui, dan kemudian dibakar. Setelah itu, cawan didinginkan dalam desikator hingga mencapai suhu kamar, kemudian ditimbang hingga bobotnya



stabil. Kadar abu yang tidak larut dalam asam kemudian dihitung sebagai persentase dari berat bahan uji (Depkes RI, 2017).

$$\text{Kadar abu tidak larut asam} = \frac{w_1 - w_2}{w} \times 100\%$$

$w$  = bobot simplisia (kadar abu total sebelumnya)

$w_1$  = bobot akhir

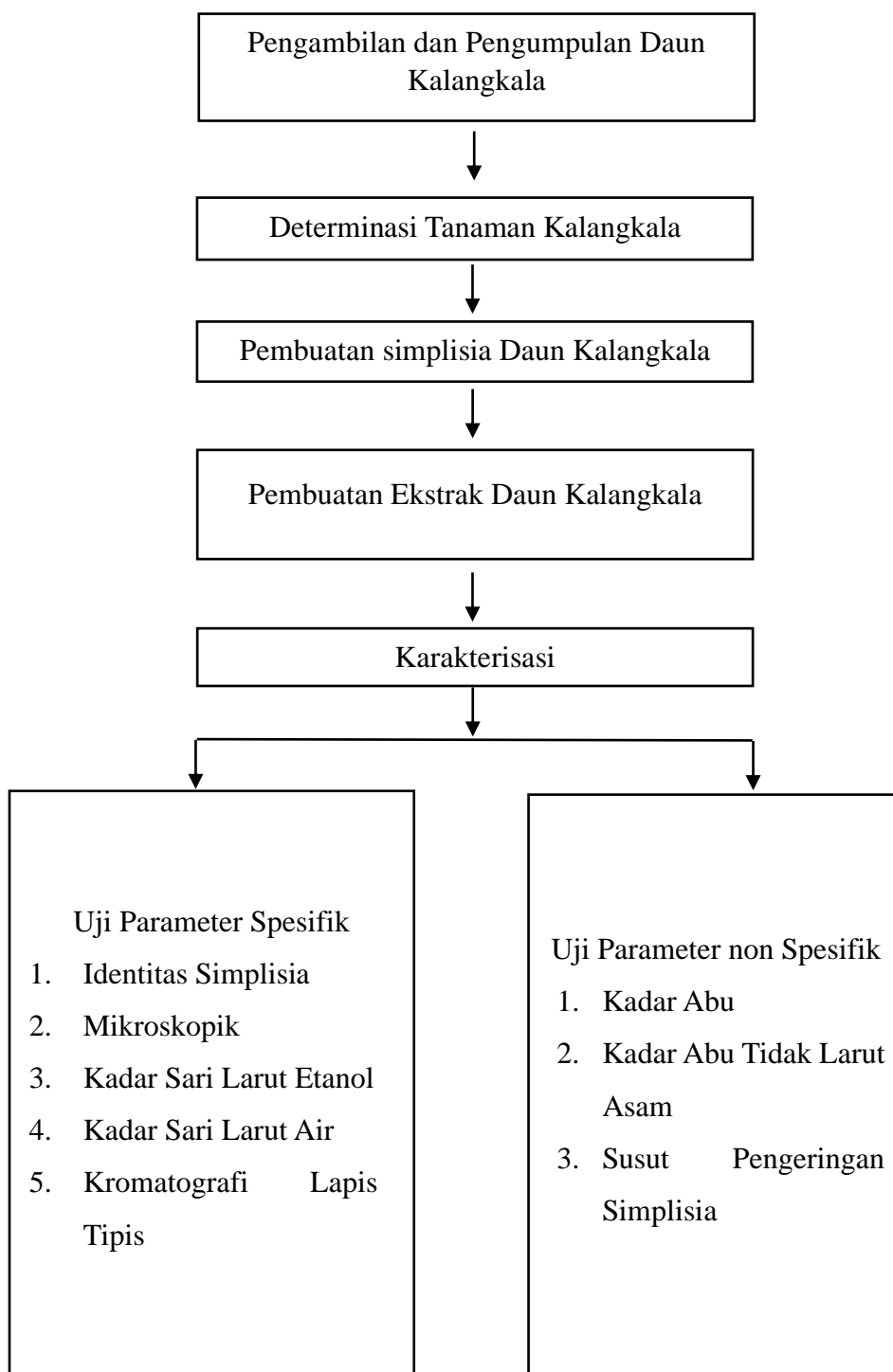
$w_2$  = bobot cawan kosong

(Utami *et al.*, 2021)

c. Susut Pengeringan

Proses pengeringan dilakukan menggunakan moisture balance. Perangkat dihubungkan ke sumber listrik dan dibiarkan selama 30 menit sebelum memulai pengujian. Setelah 30 menit, sampel uji sekitar 5 gram dimasukkan ke dalam wadah alumunium, diratakan di atasnya, dan kemudian alat ditutup. Selanjutnya, tunggu hingga alat berhenti dan catat nilai LOD (*Lost On Drying*) pada sampel setelah proses pengeringan selesai (Utami *et al.*, 2021). Pengujian susut pengeringan simplisia dilakukan dengan 3 kali replikasi.

### 3.9 Kerangka Penelitian



### **3.10 Analisis data**

Hasil penelitian disajikan secara deskriptif kuantitatif dan kualitatif yang memuat hasil pengujian karakterisasi parameter spesifik dan non spesifik beserta persyaratan tiap pengamatan berdasarkan literatur.