

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian kuantitatif yang dilakukan dengan cara eksperimen laboratorium. Penelitian yang dilakukan ialah uji parameter nonspesifik ekstrak etanol kulit batang tandui (*Mangifera rufocostata* Kosterm.).

B. Lokasi dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Mei - Juli 2022 di Laboratorium Bahan Alam STIKES Borneo Lestari. Sampel penelitian kulit batang tandui yang diambil dari Desa Taras Padang, Kecamatan Labuan Amas Selatan, Kabupaten Hulu Sungai Tengah yang diambil pada bulan November 2021.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi penelitian ini ialah tanaman tandui (*Mangifera rufocostata* Kosterm.) yang tumbuh di daerah Barabai, Hulu Sungai Tengah.

2. Sampel

Sampel pada penelitian ini ialah kulit batang tandui (*Mangifera rufocostata* Kosterm.) yang tumbuh di daerah Barabai, Hulu Sungai Tengah.

D. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini ialah autoklaf, aluminium foil, ayakan 40, batang pengaduk, bejana, cawan petri, cawan porselin, corong pisah, desikator, gelas *erlenmayer*, gelas kimia, gelas ukur, *hot plate*, *hotplate stirrer*, *inkubator*, kaca arloji, kertas saring, krus porselen, krus silikat, labu destilasi, piknometer, pipet tetes, *rotary evaporator*, Spektrofotometer Serapan Atom (SSA), tabung reaksi, timbangan analitik.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini ialah aquadest, asam perkolat, asam sulfat, asetonitril, Air Suling Agar (ASA), etanol 70%, HCL pekat, kapas, kulit batang Tandui (*Mangifera rufocostata* Kosterm.), toluen, *Plate Count Agar* (PCA).

E. Cara Pengumpulan Data

1. Pengumpulan Tanaman

Simplisia dibuat dengan beberapa tahapan yaitu pengumpulan bahan baku. Bahan baku simplisia diambil dari pohon Tandui (*Mangifera rufocostata* Kosterm.) di daerah Barabai, Hulu Sungai Tengah. Bagian tanaman tandui yang digunakan adalah kulit batang. Pengambilan kulit batang dilakukan pada batang tanaman yang dewasa. Kulit batang yang diambil pada bagian tengah batang pohon.

2. Determinasi

Sampel dideterminasi dengan cara mengambil bagian daun, batang dan kulit batang dari tumbuhan tandui (*Mangifera rufocostata* Kosterm.) di daerah Barabai, Hulu Sungai Tengah. Sampel dibuat

herbarium yang kemudian dideterminasi di Laboratorium FMIPA ULM Banjarbaru.

3. Penyiapan Simplisia

Bahan baku simplisia di sortasi basah untuk menghilangkan kotoran atau bahan asing seperti yang terdapat pada simplisia. Kemudian dilakukan pencucian bahan untuk menghilangkan tanah atau pengotor lainnya. Pencucian menggunakan air mengalir dan bersih. Tahap selanjutnya ialah perajangan, untuk mempermudah proses pengeringan, penggilingan dan penyimpanan. Setelah itu dilakukan tahap pengeringan agar simplisia tidak mudah rusak. Pengeringan dilakukan dibawah sinar matahari ditutupi dengan kain hitam atau diangin anginkan. Tahap selanjutnya adalah sortasi kering yang bertujuan untuk memisahkan benda asing seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan atau tidak diperlukan. Tahap terakhir adalah penggilingan dan penyimpanan, simplisia diblender untuk mendapatkan serbuk simplisia lalu diayak dengan pengayak mesh 40, serbuk simplisia disimpan. (Prasetyo & Inorih, 2013)

4. Pembuatan Ekstrak

Ekstrak dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Masukkan 1000 gram serbuk simplisia kulit batang tandui (*Mangifera rufocostata* Koterm.) kedalam bejana kemudian tambahkan pelarut sampai serbuk terendam. Rendam sambil sesekali diaduk, diamkan selama 2 hari. Lakukan penyaringan maserat secara filtrasi.

Residu diremaserasi sebanyak satu kali. Maserat dikumpulkan kemudian dikentalkan atau diuapkan dengan *vacum rotary evaporator* pada suhu 40°C. Ekstrak kemudian diuapkan diatas *waterbath* pada suhu 50°C sampai didapat bobot tetap ekstrak yang ditimbang sebanyak dua kali dan hasil perbedaan penimbangan tidak melebihi 0,5 mg dengan penimbangan analitik. Kemudian hitung rendemen ekstrak kental tersebut (Depkes RI, 2017; Marpaung, 2020).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh (g)}}{\text{Bobot simplisia awal yang ditimbang (g)}} \times 100\%$$

5. Penentuan Parameter Nonspesifik

a. Penentuan Bobot Jenis

Piknometer disiapkan dan dibersih, dan sudah dikalibrasi dengan menetapkan bobot piknometer serta bobot air baru mendidih pada suhu 25°C. Atur suhu ekstrak kurang lebih 20°C lalu masukkan kedalam piknometer. Atur suhu piknometer yang sudah diisi sampai suhu 25°C, buang ekstrak yang berlebih lalu timbang. Bobot jenis ekstrak ialah hasil dari membagi bobot ekstrak dengan bobot air, pada piknometer dengan suhu 25°C (Depkes RI, 2000).

$$\text{Bobot jenis} = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0}$$

Ket : W₀ : bobot piknometer kosong

W₁ : bobot piknometer + aquadest

W₂ : bobot piknometer + ekstrak (Rahmiani,2019).

b. Penetapan Kadar Air

Cara destilasi toluen, toluen yang akan digunakan dijenuhkan terlebih dahulu dengan air lalu dikocok dan didiamkan. Akan terjadi lapisan air dan toluen, lapisan air dibuang. Timbang ekstrak sebanyak 10 g masukkan kedalam labu alas bulat, tambahkan toluen yang sudah dijenuhkan. Panaskan labu selama 100 menit, setelah mendidih lakukan penyulingan 2 tetes/detik, lalu 4 tetes/detik. Setelah toluen mendidih lanjutkan pemanasan selama 5 menit. Biarkan tabung dingin hingga suhu kamar. Volume air dapat dibaca setelah toluen dan air memisah sempurna. Replikasi sebanyak 3 kali lalu hitung persentasenya (Depkes RI, 2000; Saifudin dkk., 2011).

$$Kadar\ air = \frac{volume\ air}{berat\ sampel} \times 100\%$$

c. Penetapan Kadar Abu

Ekstrak sebanyak 3g yang telah digerus dan ditimbang, dimasukkan ke dalam krus silikat yang sudah dipijarkan dan ditara. Pijarkan secara perlahan sampai arang habis, lalu dinginkan dan timbang. Jika arang tidak dapat hilang maka tambahkan air panas, kemudian saring dengan kertas saring bebas abu. Pijarkan sisa kertas dan kertas saring ke dalam krus yang sama. Masukkan filtrat pada krus, uapkan dan pijarkan sampai bobot tetap. Kemudian ditimbang dan hitung kadar abu bahan yang sudah di keringkan di udara (Depkes RI, 2000).

$$Kadar\ abu\ total = \frac{\text{Berat abu sisa pijar}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$$

(Supomo dkk, 2016)

d. Kadar abu tidak larut asam

Abu yang didapat pada penetapan kadar abu total, dididihkan dengan 25 ml asam sulfat encer selama 5 menit, kumpulkan bagian abu yang tidak larut dalam pada asam, saring dengan kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas, pijarkan abu lalu ditimbang. Hitung kadar abu tidak larut asam yang telah dikeringkan (DepKes RI, 2000).

$$Kadar\ abu\ tidak\ larut\ asam = \frac{\text{bobot abu (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\%$$

e. Penentuan Cemaran Logam

Cemaran logam dapat dilakukan dengan metode Spektrofotometri serapan atom. Ekstrak sebanyak 1 g ditambah 10 ml HNO₃ pekat. Kemudian dipanaskan sampai kental atau kering. Ekstrak yang sudah kental dan dingin ditambahkan aquadest 10 ml dan asam perkolat 5 ml. Lalu dipanaskan lagi hingga kental dan disaring ke labu ukur 50 ml. Tambahkan aquadest sebanyak 50 ml, sampel diukur dengan metode Spektrofotometri Serapan Atom (DepKes RI, 2000; Saifudin dkk., 2011 dalam Marpaung, 2020).

f. Penentuan Cemarkan Mikroba

Disiapkan 5 buah tabung yang sudah di isi dengan 9 ml pengencer *Pepton Dilution Fluid*, dibuat pengenceran 10^{-1} sebanyak 1ml kedalam tabung yang berisi pengencer *Pepton Dilution Fluid* hingga diperoleh pengencer 10^{-2} lalu dikocok sampai homogen. Selanjutnya dibuat pengenceran hingg 10^{-6} atau sesuai kebutuhan. Setiap pengenceran dipipet 1ml ke dalam cawan petri lalu dibuat duplo. Setiap cawan dimasukkan 15- 20 ml media *Plate Count Agar* ($45\pm 1^\circ$). Cawan petri langsung digoyang dan diputar sampai media tersebar merata. Setelah media padat, cawan petri diinkubasi pada suhu $35-37^\circ\text{C}$ selama 24-48 jam pada posisi terbalik. Amati jumlah koloni yang tumbuh dan hitung (Depkes RI, 2000; Sauifudin dkk., 2011 dalam Marpaung, 2020).

g. Penentuan Cemarkan Kapang dan Khamir

Siapkan 3 buah tabung yang masing-masing tabung di isi 9 ml Air Suling Agar. Dibuat pengenceran 1 ml pengenceran 10^{-1} kedalam tabung Air Suling Agar dan dikocok sampai homogen. Buat pengenceran sampai 10^{-4} . Masing-masing pengenceran dipipet sebanyak 0,5 ml, kedalam cawan petri yang steril. Cawan petri digoyangkan dengan hati-hati hingga merata pada media. Inkubasi pada suhu kamar atau 25°C selama 7 hari.

Catat hasil jumlah kapang dan khamir sampel (DepKes RI, 2000; Saufudin dkk, 2011 dalam Marpaung, 2020).

F. Kerangka Penelitian

