

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Alat dan Bahan

4.1.1 Alat yang digunakan

Alat untuk maserasi, Alat untuk penetapan kadar air, Alat-alat gelas, Neraca analitik *Ohaus*, Furnace *Thermoline* 48000, Oven *MMM Medcenter Venticell*, Deksikator, Lempong silika GF 254, Kertas saring bebas abu *Whatman*, Waterbath, *hotplate*, Rotary evaporator *Buchi R-200*.

4.1.2 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah bagian daun *Abelmoschus manihot* (L.) Medik (gedi merah dan gedi hijau) yang diperoleh dari di Kelurahan Buha, Kecamatan Mapanget, Manado, Sulawesi Utara. Daun dikumpulkan dan dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 7 hari. Untuk memastikan bahwa daun telah kering, daun akan rapuh bila diremas. Setelah itu simplisia kering diserbukkan.

4.1.3 Bahan Kimia dan Pereaksi

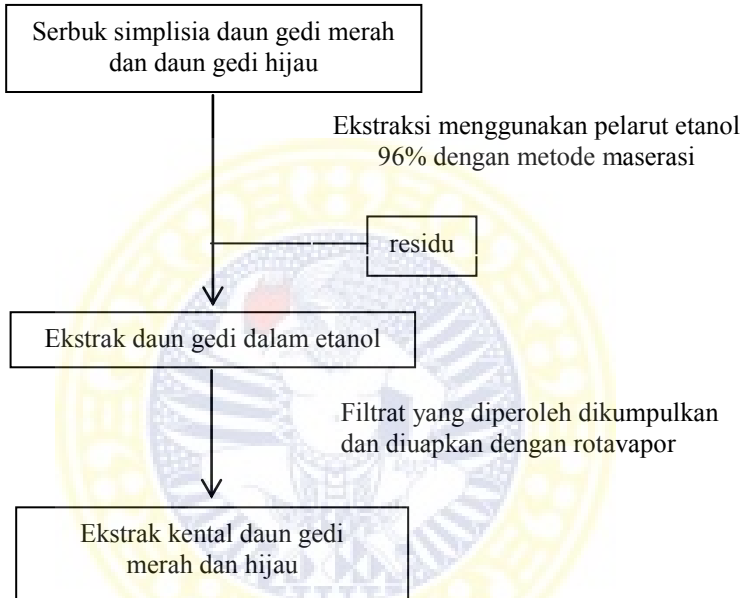
Etanol 96% *p.a*, Etil asetat, *n*-heksan, Toluena *p.a*, Aquades, Air kloroform LP, Asam sulfat encer, dan pereaksi anisaldehyda asam sulfat.

4.2 Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan etanol 96% selama 24 jam dan pada 6 jam pertama sesekali dilakukan pengadukan. Jumlah pelarut yang digunakan sebanyak 4 kali jumlah serbuk simplisia yang akan di ekstraksi atau serbuk simplisia terendam lebih kurang 5 cm diatas permukaan simplisia. Hasil maserasi daun gedi disaring dengan

kertas saring kemudian residu dimaserasi kembali sebanyak 4 kali. Maserat yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40-50°C sampai diperoleh ekstrak kental.

Skema penjelasan diatas disederhanakan dalam gambar 4.1



Gambar 4.1 Skema pembuatan ekstrak

4.3 Penetapan Parameter Non-Spesifik

4.3.1 Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air ditetapkan dengan cara destilasi toluena. Toluena yang digunakan dijenuhkan dengan air terlebih dahulu, setelah dikocok didiamkan, kedua lapisan air dan toluena akan memisah. Untuk lapisan air dibuang, sedangkan lapisan toluen didestilasi selama 2 jam sebelum digunakan.

Cara Penetapan

Sebanyak 2,0 g ekstrak ditimbang dengan seksama, dimasukkan ke dalam labu alas bulat dan ditambahkan 200 mL fase toluen. Alat dipasang dan dituang toluen kedalam tabung penerima melalui pendingin. Labu dipanaskan hati-hati selama 15 menit, setelah toluen mendidih penyulingan diatur 2 tetes / detik selama 5 menit kemudian dinaikkan kecepatan 4 tetes/ detik. Setelah semua fase toluen mendidih, pendingin dicuci dengan fase toluen dan penyulingan dilanjutkan selama 5 menit. Dibiarkan tabung penerima mendingin sampai air dan toluen memisah sempurna. Volume air dibaca dan dihitung kadar air dalam persen berat ekstrak semula. (Saifudin *et al.*, 2011)

4.3.2 Penetapan Kadar Abu Total

Sejumlah 1,0 gram ekstrak ditimbang seksama (W1), dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara (W0), kemudian dipijarkan perlahan-lahan dengan suhu dinaikkan secara bertahap hingga 600 ± 25 °C hingga arang habis. Kemudian ditimbang hingga bobot tetap (W2). Pengujian ini dilakukan replikasi sebanyak 3 kali (Farmakope Indonesia ed IV, 1995).

$$\% \text{ Kadar Abu Total} = \frac{W2 - W0}{W1} \times 100\%$$

4.3.3 Penetapan Kadar Abu Tidak Larut dalam Asam

Sejumlah 1,0 gram ekstrak ditimbang seksama (W_1) di pijarkan hingga didapatkan abu. Abu yang telah diperoleh dididihkan dengan 25 mL asam sulfat encer selama 5 menit. Bagian yang tidak larut dalam asam disaring melalui kertas saring bebas abu dan residunya dibilas dengan air panas, residu yang tersaring dan kertas saringnya dimasukkan ke dalam krus (W_0). Kemudian dipijarkan perlahan-lahan dengan suhu dinaikan bertahap hingga 600 ± 25 °C hingga arang habis. Kemudian ditimbang hingga bobot tetap (W_2). (Farmakope Indonesia ed IV, 1995)

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

4.3.4 Penetapan Susut Pengerinan

Sebanyak 1,0 g ekstrak dalam botol timbang dangkal bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Ekstrak diratakan dengan cara menggoyangkan botol kemudian dimasukkan kedalam oven dengan posisi tutup botol dibuka selama 5 jam pada suhu penetapan. Kemudian pemanasan dilakukan selama 1 jam hingga didapatkan bobot tetep. Sebelum pengeringan kembali, botol dibiarkan dalam deksikator dengan keadaan botol timbang tertutup selama 15 menit hingga suhu kamar. (Depkes RI, 2000).

4.4 Penetapan Parameter Spesifik

4.4.1 Organoleptik

Pemeriksaan organoleptik terhadap ekstrak etanol 96% daun gedhi hijau dan daun gedhi merah yang meliputi bentuk, warna, bau, dan rasa

4.4.2 Kadar Senyawa yang Larut dalam Air

Sejumlah 1,0 g (W1) ekstrak dimaserasi dengan 25,0 mL air kloroform P selama 24 jam menggunakan labu ukur sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian didiamkan selama 18 jam. Disaring 5,0 mL filtrat diuapkan dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara (W0), residu dipanaskan pada suhu 105° hingga bobot tetap (W2). (Saifudin *et al.*, 2011)

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

4.4.3 Penetapan Kadar Senyawa yang Larut dalam Etanol

Sejumlah 1,0 g ekstrak (W1) dimaserasi dengan 25,0 mL etanol 96% selama 24 jam menggunakan labu ukur sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian didiamkan selama 18 jam. Disaring cepat dengan menghindari penguapan etanol. Filtrat sebanyak 20 ml diuapkan dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara (W0), residu dipanaskan pada suhu 105° hingga bobot tetap (W2). (Saifudin *et al.*, 2011)

$$\% \text{ Kadar senyawa yang larut etanol} = \frac{W2 - W0}{W1} \times 100\%$$

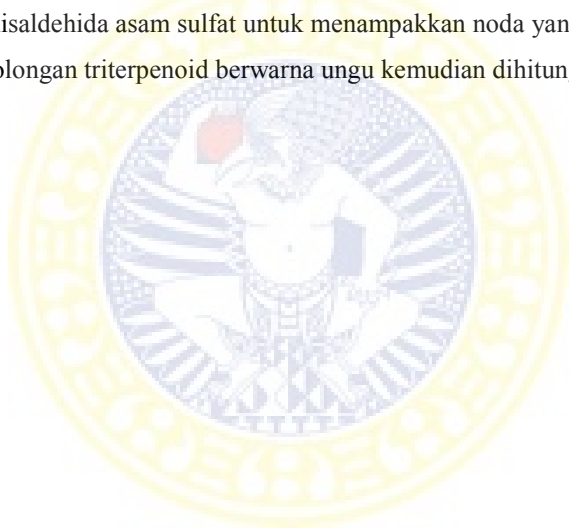
4.4.4 Penetapan Kadar Minyak Atsiri

Penetapan kadar air ditetapkan dengan cara destilasi Karlshuhe. Ditimbang dengan seksama 1,0 g ekstrak dan dimasukkan kedalam labu alas bulat 1 L, kemudian ditambahkan 200 mL air suling dan batu didih. Labu dihubungkan dengan pendingin dan buret berskala. Labu dipanaskan dengan penangas listrik, sehingga penyulingan dapat diatur lamban selama 2 jam. Setelah penyulingan selesai, matikan penangas dan dibiarkan selama

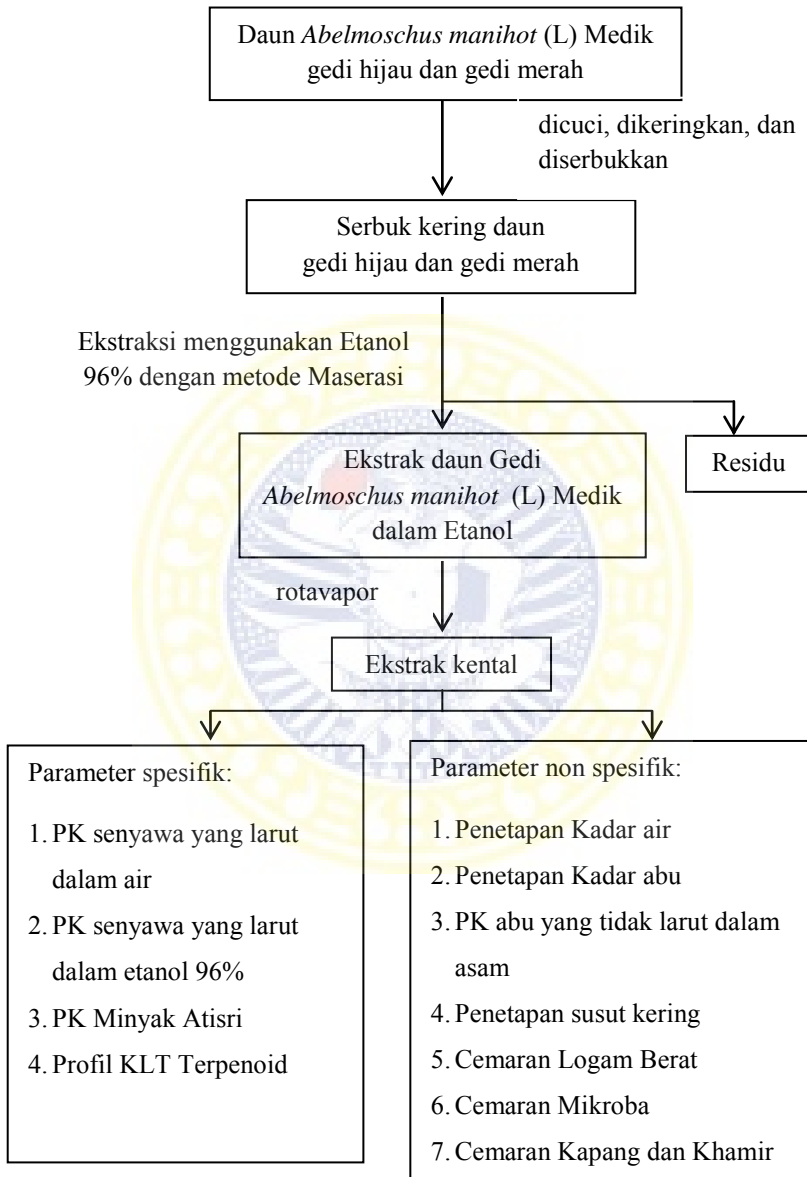
tidak kurang dari 15 menit. Volume minyak atsiri pada buret dicatat. Kadar minyak atsiri dihitung dalam %v/b (Saifudin *et al.*, 2011)

4.4.5 Profil KLT Terpenoid

Ekstrak sebanyak 200 mg dilarutkan dalam 4 mL etanol 96% untuk memperoleh larutan uji. Larutan uji ditotolkan sebanyak 1 kali dengan volume 2 μ L pada Lempeng silika GF 254 sebagai fase diam, kemudian dieluasi dengan fase gerak *n*-heksan : etil asetat dengan perbandingan 7: 3 lalu diamati pemisahan senyawa. Lempeng silika disemprot dengan pereaksi anisaldehida asam sulfat untuk menampakkan noda yang khas pada senyawa golongan triterpenoid berwarna ungu kemudian dihitung R_f.



Rancangan penelitian tersebut bisa dilihat pada bagan di bawah ini:



Gambar 4.2 Skema Rancangan penelitian