

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman ajeran (*Bidens pilosa* L.) yang terdapat di pinggir jalan dan belakang rumah.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun ajeran (*Bidens pilosa* L.) yang diambil di Kelurahan Lawu, Kecamatan Nguter, Kabupaten Sukoharjo, Provinsi Jawa Tengah dengan kondisi daun tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Penelitian ini mengidentifikasi mutu simplisia serbuk daun ajeran (*Bidens pilosa* L.) sebagai variabel utama, setelah dikeringkan menggunakan metode *food dehydrator*. Penilaian dilakukan berdasarkan parameter Farmakope Herbal Indonesia, meliputi pengamatan makroskopis dan mikroskopis, penetapan kadar air dan susut pengeringan, kadar abu total dan abu tidak larut asam, kadar sari larut air dan etanol.

2. Klasifikasi Variabel Utama

2.1. Variabel Bebas. Simplisia daun ajeran yang dikarakterisasi berdasarkan parameter mutu simplisia.

2.2. Variabel Tergantung. Parameter mutu simplisia (karakteristik makroskopis dan mikroskopis, kadar air, susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol).

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Pertama, daun ajeran (*Bidens pilosa* L.) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari tanaman yang tumbuh di wilayah Solo, Surakarta, dalam kondisi segar, cukup matang, dan tidak rusak. Daun tersebut diproses melalui tahapan sortasi awal, pencucian dengan air bersih, serta pengeringan menggunakan *food dehydrator* pada suhu yang dikendalikan. Setelah kering, dilakukan sortasi ulang, kemudian daun dipotong, dihaluskan, dan diayak menggunakan ayakan mesh nomor 60 hingga diperoleh serbuk simplisia yang halus.

Kedua, karakteristik makroskopis adalah ciri-ciri fisik yang dapat diamati dengan melihat, seperti tekstur serbuk, warna, rasa, serta aroma serbuk daun ajeran.

Ketiga, karakteristik mikroskopis adalah ciri-ciri struktur seluler yang diamati melalui mikroskop, mencakup pengamatan epidermis daun, stomata, dan sistem vaskular yang ada pada serbuk daun ajeran.

Keempat, susut pengeringan adalah pengurangan berat bahan setelah dikeringkan dengan oven pada suhu pengeringan 105°C hingga bobot konstan.

Kelima, kadar abu total adalah persentase berat abu yang terkandung dalam simplisia setelah pembakaran pada suhu 800 °C, dengan muffle furnace.

Keenam, kadar abu tidak larut asam adalah persentase abu yang tidak dapat larut dalam larutan asam klorida (HCl) setelah pembakaran simplisia daun ajeran pada suhu yang sama 800°C, dengan muffle furnace.

Ketujuh, kadar sari larut air adalah persentase berat ekstrak yang diperoleh dari simplisia daun ajeran menggunakan pelarut air jenuh kloroform pada suhu kamar selama 24 jam untuk sari larut air.

Kedelapan, kadar sari larut etanol adalah persentase berat ekstrak yang diperoleh dari simplisia daun ajeran menggunakan pelarut etanol 96 % pada suhu kamar selama 24 jam untuk sari larut etanol.

C. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan analitik, *food dehydrator*, oven, desikator, cawan porselen, kurs, blender, penampakan, erlenmeyer 100 mL dan 250 mL, penangas air, spatula, kertas saring bebas abu, tanur listrik, mikroskop, pipet volume 10 mL dan 25 mL.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain simplisia serbuk daun ajeran, etanol 96%, air kloroform, HCl 10%, reagen pewarna mikroskopis,.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi

Determinasi tanaman dilakukan di UPA Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta. Proses ini bertujuan untuk mengidentifikasi ciri-ciri morfologi tanaman, memastikan keabsahan

spesimen, dan mencocokkannya dengan referensi yang ada dalam buku monografi untuk menentukan jenis, nama, serta klasifikasi tumbuhan tersebut.

2. Pembuatan simplisia

Daun ajeran (*Bidens pilosa* L.) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari tanaman yang masih segar dan dalam kondisi baik, yang tumbuh di wilayah Kelurahan Lawu, Kecamatan Nguter, Kabupaten Sukoharjo, Provinsi Jawa Tengah. Proses panen dilakukan dengan pemilihan daun pada pagi hari untuk memastikan daun dalam kondisi segar. Setelah daun dipanen, dilakukan sortasi basah secara manual untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada daun. Proses pencucian dilakukan dengan cepat dan hati-hati agar kandungan zat aktif pada daun ajeran tidak hilang. Daun yang sudah bersih kemudian tiriskan dan dimasukkan pada alat *food dehydrator* untuk dikeringkan. *Food dehydrator* diatur dengan suhu 50⁰C dalam waktu 5 jam. Setelah proses pengeringan selesai, daun ajeran disortasi kering untuk menghilangkan debu dan kotoran lainnya yang masih menempel pada simplisia kering sehingga hanya menyisakan daun ajeran berkualitas terbaik untuk digunakan dalam penelitian.

3. Pembuatan serbuk daun ajeran

Daun ajeran (*Bidens pilosa* L.) yang telah dikeringkan selanjutnya dimasukkan ke dalam blender untuk memperkecil ukuran daun hingga menjadi serbuk dan diayak menggunakan nomor pengayak (60), hingga diperoleh serbuk dengan derajat serbuk halus.

4. Pengujian parameter mutu simplisia

Setelah serbuk daun ajeran diperoleh, dilakukan pengujian untuk menentukan kualitas simplisia daun ajeran berdasarkan beberapa parameter sebagai berikut:

4.1. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis. Pengujian makroskopis dilakukan dengan mengamati ciri-ciri fisik simplisia, seperti warna, bentuk, bau, dan tekstur. Sedangkan pengujian mikroskopis dilakukan untuk memverifikasi identitas seluler daun ajeran. Preparat mikroskopis disiapkan dengan pewarnaan sesuai dengan prosedur standar, kemudian diamati di bawah mikroskop untuk memastikan ciri-ciri mikroskopis sesuai dengan deskripsi tanaman tersebut (Kemenkes RI, 2018).

4.2. Susut Pengeringan. Sebanyak 1 sampai 2 g simplisia ditimbang dalam botol timbang dangkal bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu penetapan dan telah ditarakan. Ratakan bahan dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol, hingga merupakan lapisan setebal lebih kurang 5 sampai 10 mm, masukkan dalam oven, buka tutupnya, keringkan pada suhu penetapan hingga bobot tetap. Sebelum setiap pengeringan, biarkan botol dalam keadaan tertutup mendingin dalam desikator hingga suhu ruang (Kemenkes RI, 2023).

$$\text{Rumus : } \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100\%$$

W1 = Bobot simplisia sebelum pengeringan

W2 = Bobot simplisia setelah pengeringan

4.3. Kadar abu total. Sebanyak 2 sampai 3 g simplisia yang telah dihaluskan ditimbang dan dimasukkan ke dalam kurs silikat yang telah dipijarkan dan ditarakan, pijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, dinginkan dan timbang. Jika dengan cara ini arang tidak dapat dihilangkan, tambahkan air panas, aduk, saring melalui kertas saring bebas abu. Pijarkan kertas saring beserta sisa penyaringan dalam kurs yang sama. Masukkan filtrat ke dalam kurs, uapkan dan pijarkan hingga bobot tetap pada suhu 800°C. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b (Kemenkes RI, 2023).

$$\text{Rumus : } \frac{W_1 - W_2}{W} \times 100\%$$

W = Bobot simplisia sebelum diabukan,

W1 = Bobot cawan dan abu setelah pengabuan,

W2 = Bobot cawan kosong

4.4. Kadar abu tidak larut asam. Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu total didihkan dengan 25 mL asam klorida encer LP selama 5 menit. Bagian yang tidak larut dalam asam dikumpulkan, disaring menggunakan kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas, lalu dipijarkan dalam krus hingga mencapai bobot tetap pada suhu 800°C. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b (Kemenkes RI, 2023).

$$\text{Rumus : } \frac{W_1 - W_2}{W} \times 100\%$$

W = Bobot simplisia

W1 = Bobot cawan dan abu tidak larut asam,

W2 = Bobot cawan kosong

4.5. Kadar sari larut air. Lebih kurang 5 g serbuk (4/18) masukkan ke dalam labu bersumbat, ditambahkan 100 mL air jenuh kloroform, kocok berkali-kali selama 6 jam pertama, biarkan selama 18 jam. Saring, uapkan 20,0 mL filtrat hingga kering dalam cawan dangkal beralas datar yang telah dipanaskan 105° dan ditara, panaskan sisa pada suhu 105° hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam % sari larut air (Kemenkes RI, 2023).

$$\text{Rumus : } \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100\%$$

4.6. Kadar sari larut etanol. Lebih kurang 5 g serbuk (4/18) masukan kedalam labu bersumbat, ditambahkan 100 mL etanol P, kocok berkali-kali selama 6 jam pertama, biarkan selama 18 jam. Saring cepat untuk menghindarkan penguapan etanol, uapkan 20,0 mL filtrat hingga kering dalam cawan porselen yang telah dipanaskan 105°C dan ditara, panaskan sisa pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam % sari larut etanol (Kemenkes RI, 2023).

$$\text{Rumus : } \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100\%$$

E. Analisis Hasil

Analisis hasil dalam penelitian karakterisasi simplisia daun ajeran dilakukan secara deskriptif untuk menggambarkan karakteristik mutu bahan. Parameter yang dianalisis meliputi karakteristik makroskopis, mikroskopis, susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol. Setiap parameter diamati untuk memberikan gambaran awal mengenai kualitas simplisia yang diuji dan potensi pemanfaatannya sebagai bahan baku obat herbal.