

BAB III

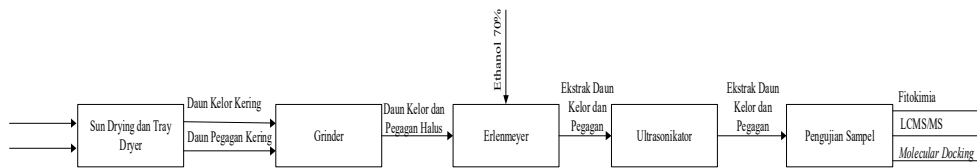
METODE PENELITIAN

3.1. Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedical dan Bioengineering, Fakultas Teknik, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa. Adapun alur penelitian yang akan dilakukan adalah sebagai berikut.

3.1.1. Block Flow Diagram Ekstrak Daun Kelor dan Pegagan

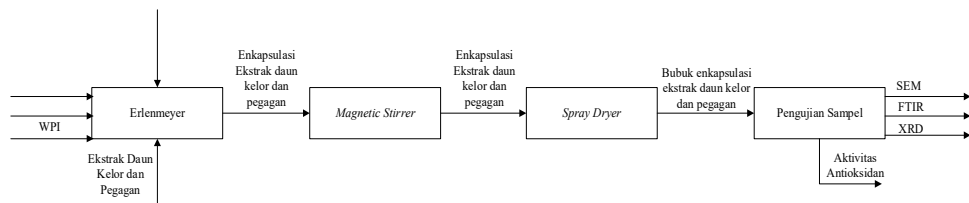
Adapun tahapan pembuatan ekstrak daun kelor dan pegagan dapat dilihat pada blok flow diagram pada gambar 3.1.



Gambar 3. 1 BFD Ekstrak Daun Kelor dan Pegagan

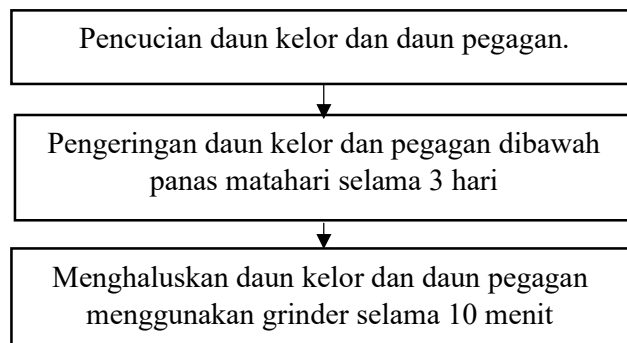
3.1.2. Block Flow Diagram Enkapsulasi Ekstrak Daun Kelor dan Pegagan

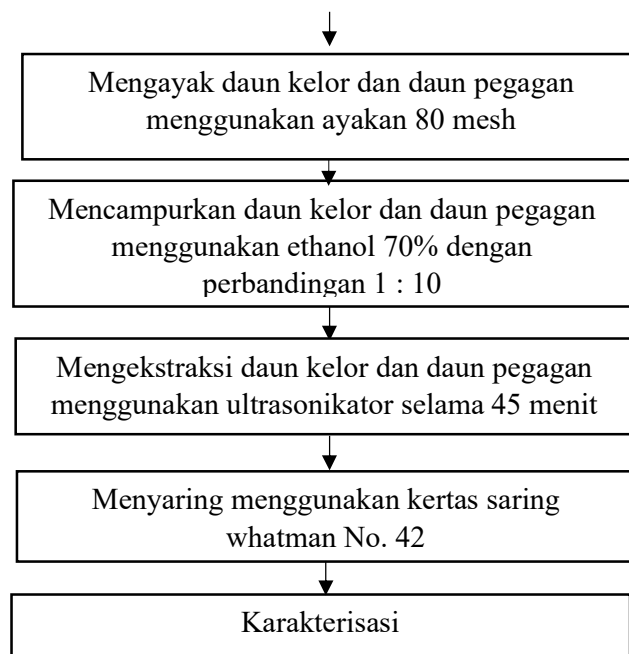
Adapun proses enkapsulasi ekstrak daun kelor dan pegagan dapat dilihat pada gambar 3.3.



Gambar 3. 2 BFD Enkapsulasi Daun Kelor dan Daun Pegagan

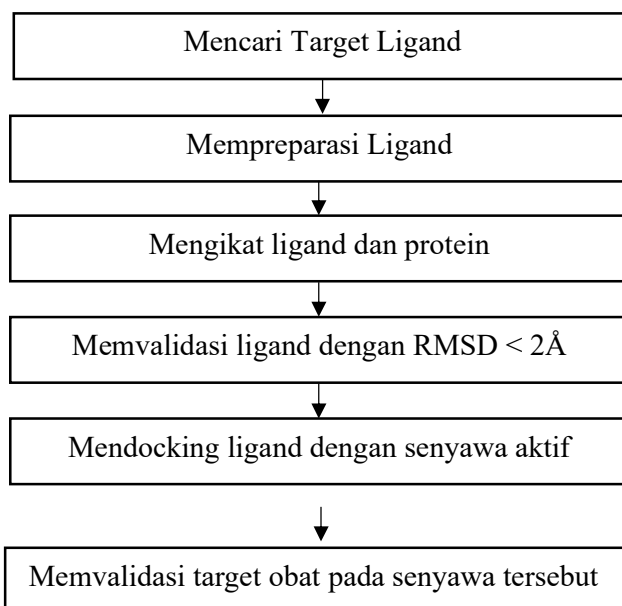
3.1.3. Diagram Alir Ekstrak Daun Kelor dan Daun Pegagan





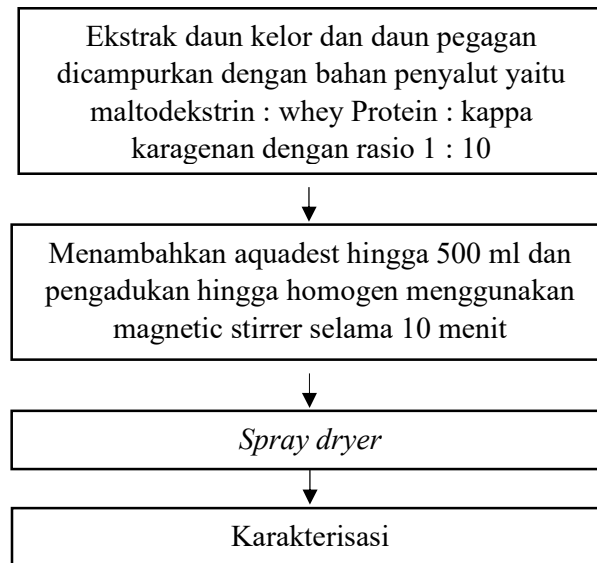
Gambar 3. 3 Diagram Alir Ekstraksi Daun Kelor dan Pegagan

3.1.4. *Molecular Docking*



Gambar 3. 4 Diagram Alir *Molecular Docking* Daun Kelor dan Pegagan

3.1.5. Enkapsulasi Daun Kelor dan Daun Pegagan



Gambar 3. 5 Diagram Alir Enkapsulasi Daun Kelor dan Daun Pegagan

3.2. Prosedur Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan enkapsulasi ekstrak daun kelor dan pegagan.

3.2.1. Ekstraksi Daun Kelor dan Daun Pegagan

Bahan pertama yang akan di ekstraksi adalah daun kelor dimana mencuci daun kelor hingga bersih menggunakan air suling. Kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari selama 3 hari. Sebanyak 50 gram daun kelor dan pegagan dicincang serta dihaluskan menggunakan grinder selama 10 menit. Lalu, sebanyak bubuk daun kelor dan daun pegagan diekstraksi dengan etanol 70% dalam gelas beaker dengan perbandingan ekstrak dengan pelarut sejumlah 1:10. Kemudian diekstraksi dengan ultrasonikator selama 45 menit. Lalu filtrat dan ampas dipisahkan menggunakan kertas saring.

3.2.2. Enkapsulasi Daun Kelor dan Daun Pegagan

Bahan penyalut terdiri dari maltodekstrin, *whey protein pro isolate*, kappa karagenan dengan ratio perbandingan 1 : 1 : 1; 1 : 3 : 0; 1 : 0 : 3. Lalu ditambahkan aquadest hingga 500 ml. Kemudian dicampurkan dengan ekstrak daun kelor dan daun pegagan dengan ratio perbandingan bahan penyalut dan bahan inti adalah 1 : 10. Selanjutnya dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* selama 10 menit. Berikutnya proses *spray drying* untuk membentuk struktur yang melindungi bahan

inti yang disebut sebagai dinding. Suhu yang digunakan dalam *spray drying* 150 °C. Selanjutnya di karakterisasi.

3.2.3. Karakterisasi Ekstrak dan Enkapsulasi Ekstrak Daun Kelor dan Daun Pegagan

Adapun karakterisasi ekstrak dan enkapsulasi ekstrak daun kelor dan daun pegagan meliputi uji kadar air, kadar abu, kelarutan dalam air, higroskopis, antioksidan SEM, XRD, FTIR.

1. Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan dengan cara sebanyak 1 ml ekstrak daun kelor dan pegagan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian direaksikan dengan pereaksinya. Uji tanin dengan menambahkan 2-3 tetes FeCl_3 1% ke dalam tabung reaksi berisi ekstrak dengan perubahan warna hijau – kehitaman. Uji flavonoid dengan meneteskan HCl 37% ke tabung reaksi berisi ekstrak dan sedikit Mg dengan perubahan warna orange. Uji Alkaloid dengan meneteskan pereaksi Mayer dengan ditandai terdapat endapan putih pada ekstrak. Uji saponin dengan menambahkan air hangat ke dalam tabung reaksi ekstrak, dikocok hingga terbentuk busa dan ditambahkan HCl. Uji Triterpenoid/Steroid dengan menambahkan pereaksi Liebermann-Burchard (LB) yang ditambahkan dalam tabung reaksi ekstrak, perubahan warna yang terjadi merah keunguan.

2. Analisis LCMS/MS

Senyawa aktif dalam ekstrak daun pegagan dan daun kelor diidentifikasi melalui analisis LCMS/MS. Analisis ini dilakukan di BRIN. LCMS/MS adalah gabungan antara kromatografi cair (LC) dan spektrometri massa (MS). MS merujuk pada analisis hanya ion prekursor, seperti yang terjadi pada iontrap, quadrupole, atau time-of-flight Massspec. MS/MS adalah kombinasi dua alat analisis massa dalam satu perangkat spektrofotometri massa. Setelah proses filtrasi MS pertama untuk ion prekursor, ion prekursor yang diberi energi tinggi dan gas nitrogen akan terfragmentasi. Ion produk yang dihasilkan oleh fragmentasi kemudian difilter oleh alat analisis massa kedua. Alat ini menggunakan QTOF Revident.

3. *Molecular Docking*

Dalam mencari target ligand perlu dilakukan studi literatur untuk mendapatkan ligand yang tepat. Kemudian membuka web PDB dan cari target ligand. Berikutnya klik download PDB. Berikutnya buka aplikasi yasara untuk preparasi ligand dan marvin sketch untuk mendapatkan 10 conformers. Setelah preparasi ligand dilakukan pengikatan antara ligand dan protein dengan aplikasi cmd sehingga akan di dapatkan skor docking pada ligand. Setelah didapatkan skor docking di validasi dengan menggunakan aplikasi yasara untuk melihat RMSD yang berfungsi untuk mengetahui jarak saat mengembalikan molekul yang diambil. RMSD (*Root Mean Square Deviation*) dikatakan valid apabila $<2\text{\AA}$ (Frimayanti, Lukman and Nathania, 2021). Selanjutnya, dilakukan docking dengan senyawa aktif pada daun kelor dan daun pegagan dengan aplikasi cmd. Dan skor docking dapat diketahui.

4. Uji Kadar Air

Kadar air dianalisis menggunakan metode termogravimetri. Penentuan kadar air didasarkan pada selisih berat bahan sebelum dikeringkan dengan penimbangan berat keringnya. Dimana dapat dilakukan dengan menimbang bahan sebesar 1 g. Sebelum dikeringkan cawan kosong dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 15 menit. Kemudian cawan berisi bahan dikeringkan menggunakan oven menggunakan 105°C selama 3 jam. Setelah 3 jam, cawan didinginkan menggunakan desikator. Berikutnya menimbang cawan berisi bahan hingga didapatkan berat yang konstan. Adapun perhitungan kadar air sebagai berikut.

$$\% = \frac{\text{berat awal} - \text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100\%$$

5. Uji Kadar Abu

Uji kadar abu dilakukan dengan menimbang satu gram sampel dan kemudian menimbang cawan kurs kosong. Sebelum uji kadar abu, pengarangan dilakukan selama satu jam dengan oven pada suhu 200°C , dan pengabuan dilakukan selama empat jam dengan furnace pada suhu 550°C . Setelah empat jam, sampel didinginkan dengan desikator selama tiga puluh menit. Kemudian, sampel

ditimbang hingga berat konstan. Perhitungan kadar abu adalah sebagai berikut. $Kadar\ abu\ (\%) = \frac{w_1 - w_2}{w} \times 100\%$

Keterangan :

w1 = bobot wadah dan sampel sesudah dilakukan pengabuan (gr)

w2 = bobot wadah kosong (gr)

w = bobot sampel sebelum pengabuan (gr)

6. Uji Higroskopis

Uji higroskopis dilakukan dengan mengamati perubahan bobot dan warna dari enkapsulasi ekstrak daun pegagan dan daun kelor dengan cara mendiamkan sampel dengan suhu ruang kemudian diamati perubahan bobot dan warna serta perubahan fisik pada sampel setiap 15, 30, 45, 60 menit dan selama 24 jam. Adapun perhitungan uji higroskopis adalah sebagai berikut.

$$\text{Uji Higroskopis} = \frac{\text{berat setelah uji} - \text{berat sebelum uji}}{\text{berat sebelum uji}} \times 100\%$$

7. Uji Kelarutan terhadap air

Uji kelarutan sampel terhadap air dilakukan dengan menimbang 0,5 gram sampel kemudian dilarutkan dengan 50 mililiter aquadest untuk mengetahui seberapa stabil sampel terhadap pengaruh air. Sebelum pengujian, kertas saring dikeringkan dalam oven selama 30 menit pada suhu 105 derajat Celcius, lalu ditimbang. Selanjutnya, residu dikeringkan dalam oven selama 3 jam pada suhu 105 derajat Celcius, lalu didinginkan dan ditimbang hingga beratnya konstan. Sebagai contoh, perhitungan untuk menghitung kelarutan terhadap air adalah sebagai berikut.

$$Kelarutan\ terhadap\ air = 1 - \frac{(c - b)}{\frac{a \times (100 - ka)}{100}} \times 100\%$$

Keterangan :

a = berat sampel yang digunakan

b = berat kertas saring

c = berat kertas saring dan residu

ka = kadar air sampel (%)

8. Uji Aktivitas Antioksidan

Metode DPPH digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan, larutan DPPH dibuat dengan menimbang 24 mg DPPH dan dilarutkan dengan methanol hingga 100 mililiter. Larutan DPPH sebanyak 3 mililiter dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 0.1 mililiter ekstrak daun kelor dan pegagan. Selanjutnya, sampel diukur menggunakan *spektrofotometer UV-VIS* dengan panjang gelombang 517 nm setelah diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang.

3.3. Alat dan Bahan

3.3.1. Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Gelas beaker
- b. Processor ultrasonic
- c. Tray dryer
- d. Rotary evaporator
- e. Gelas ukur
- f. Kertas saring
- g. Magnetic Stirrer
- h. Neraca analitik
- i. Perangkat Komputer
- j. *Spray dryer*
- k. Spatula

3.3.2. Bahan

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Aquadest
- b. Daun kelor
- c. Etanol 70%
- d. Kappa Karagenan
- e. Maltodekstrin
- f. Pegagan
- g. Whey Protein Pro Isolate

3.4. Variabel Penelitian

Penelitian ini menggunakan variabel bebas, terikat, dan terkontrol. Variabel bebas sendiri adalah variabel yang memengaruhi unsur yang akan diteliti; variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas; dan variabel terkontrol adalah variabel yang dapat dikontrol atau konstan. Enkapsulasi adalah variabel bebas untuk studi ini. Selanjutnya, variabel terikatnya adalah hubungan antara bahan penyalut dan bahan.