

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif

B. Tempat dan waktu penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia dan Farmasi bahan alam jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Kupang

2. Waktu penelitian

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan februari sampai bulan maret 2026

C. Populasi dan sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah madu yang dihasilkan oleh lebah (*Apis dosarta*) yang berasal dari Kecamatan Amfoang, Kabupaten Kupang, Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT).

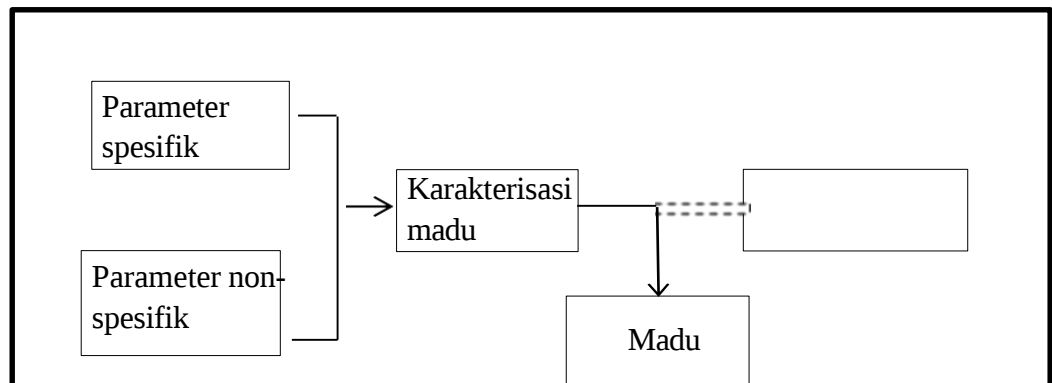
2. Sampel

Sampel penelitian berupa madu (*Apis dosarta*) yang dikumpulkan dari wilayah Amfoang Tengah dan Amfoang Selatan yang termasuk dalam Kecamatan Amfoang, Kabupaten Kupang, Provinsi Nusa Tenggara Timur.

D. Variabel penelitian

1. Variabel bebas : madu
2. Variabel terikat : karakterisasi
3. Variabel pengganggu : kondisi lingkungan

E. Kerangka konsep



Gambar 2. Kerangka Konseptual

Keterangan :

----- = variabel yang tidak diukur

———— = variabel yang diukur

F. Definisi operasional

Tabel 1. Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Skala
1	madu hutan amfoang	Madu hutan asli dari Amfoang	Ordinal
2	Parameter spesifik	Pengukuran karakteristik spesifik meliputi uji organoleptik, penetapan kadar sari larut air, sari larut etanol, serta analisis kandungan fitokimia.	Ordinal
3	Parameter non-spesifik	Pengukuran karakteristik non-spesifik meliputi kadar air, kadar abu, dan kadar abu tidak larut asam dari madu hutan	Ordinal

G. Alat dan bahan

1. Alat

Timbangan analitik, batang pengaduk (*pyrex*), *beaker glass* (*pyrex*) berbagai ukuran, gelas ukur (*pyrex*) berbagai ukuran, corong, labu bersumbat (*pyrex*)

segala ukuran, kertas saring, kain flanel, tabung reaksi (*pyrex*), pipet tetes (*pyrex*), cawan porselen (RRC), kertas perkamen, refraktometer, krus silikat (*Fire Assay Crucible*), kertas saring bebas abu, spatel, sendok tanduk (RRC), *tissue* (*passeo*), batang pengaduk (*pyrex*), *hot plate*, desikator, *water bath*, *aluminium foil* (*adimas*), oven dan tanur.

2. Bahan

Madu hutan, Aquadest, etanol 95%, kloroform, HCl 1 N, HCl 2N, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, serbuk magnesium (Mg), HCl pekat, FeCl₃ 1%, pereaksi *Liebermann–Burchard*, etil asetat, *metanol*, air, butanol, n-butanol dan n-heksana.

H. Prosedur penelitian

1. Pengambilan sampel

Madu yang digunakan sebagai sampel penelitian berasal dari daerah Amfoang, Kabupaten Kupang, Provinsi Nusa Tenggara Timur.

2. Karakterisasi madu

a. Parameter spesifik

1. Organoleptik

Bentuk : sampel diletakkan diatas dasar yang berwarna putih, dilihat bentuk/rupa dan warna.

Bau : ambil sedikit madu dimasukkan ke dalam lumpang, gerus dan dicitum baunya

Rasa : ambil sedikit madu diletakkan pada lidah dan dikecap kecap selama 1-2 menit (Nuralyza *et al.*, 2024).

2. Senyawa larut air

Sebanyak 5 g madu ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu bersumbat, kemudian ditambahkan 100 mL air jenuh kloroform. Campuran tersebut dikocok berulang kali selama 6 jam dan selanjutnya didiamkan selama 18 jam. Setelah proses tersebut, larutan disaring dan sebanyak 20 mL filtrat diuapkan hingga kering dalam botol timbang yang telah ditara. Residu yang diperoleh dipanaskan pada suhu 105 °C hingga mencapai bobot konstan. Kadar sari larut air dinyatakan dalam persen dan dihitung berdasarkan berat bahan awal (Farmakope Herbal, 2017). Kadar sari larut air selanjutnya ditentukan menggunakan persamaan berikut:

$$\% = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \times \frac{100}{20} 100\%$$

Keterangan :

W₀ = bobot cawan kosong

W₁ = bobot cawan + sampel yang digunakan

W₂ = bobot cawan + hasil pengeringan.

3. Senyawa larut etanol

Ditimbang 5 g madu dimasukkan kedalam labu bersumbat, ditambahkan 100 mL etanol (95%), dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Setelah itu disaring dan diuapkan 20 mL filtrat hingga kering dalam botol timbang yang telah ditara, dipanaskan sisa pada suhu 105 °C hingga bobot tetap. dihitung kadar dalam persen sari yang larut dalam etanol (95%) dihitung terhadap bahan awal (Farmakope Herbal, 2017). % kadar sari

larut etanol dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\% = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \times \frac{100}{20} 100\%$$

Keterangan:

W₀ = bobot cawan kosong

W₁ = bobot cawan + sampel yang digunakan

W₂ = bobot cawan + hasil pengeringan.

4. Uji senyawa fitokimia

a. Uji alkaloid

Sampel madu sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan 6 mL aquades. 3 mL larutan dipipet ke dalam tabung reaksi lain dan ditambahkan 0,3 mL HCl 2N. Larutan dipanaskan dalam air mendidih selama 3 menit kemudian dibiarkan dingin. larutan dipindahkan ke dalam tiga tabung reaksi masing-masing 1 mL. Tambahkan 2 tetes pereaksi 15 Dragendorff, pereaksi Mayer, dan pereaksi Wagner ke dalam masing-masing tabung reaksi.

Hasil positif ditunjukkan oleh endapan jingga-merah bata untuk alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, endapan putih atau kuning untuk alkaloid dengan pereaksi Mayer, dan endapan merah kecoklatan untuk alkaloid dengan pereaksi Wagner (Kusterer *et al.*, 2018).

b. Uji flavonoid

Uji Flavonoid Sebanyak 2 mL sampel madu dilarutkan dengan 6 mL aquades dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Pipet 1 mL larutan

dan ditambahkan 1 mL etanol dan dipanaskan selama lima menit di dalam tabung reaksi. Beberapa tetes HCl pekat ditambahkan dan dilanjutkan dengan 0,025 g Mg. Hasil positif ditunjukkan dengan munculnya warna merah tua (magenta) dalam waktu 3 menit (Kusterer *et al.*, 2018).

c. Uji Tanin

Uji Tanin Sampel madu sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan 3 mL aquades. Tiga tetes larutan dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan warna biru tua atau coklat kehijauan (Kusterer *et al.*, 2018).

d. Uji saponin

Sebanyak 2 mL sampel dipipet ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 mL akuades. Campuran tersebut dipanaskan menggunakan penangas air selama 5 menit, dibiarkan hingga mencapai suhu ruang, lalu dikocok hingga terbentuk buih. Keberadaan saponin ditunjukkan oleh terbentuknya busa yang stabil dan bertahan selama ± 10 menit (Kusterer *et al.*, 2018).

e. Uji terpenoid dan steroid

Sebanyak 2 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 mL akuades. Selanjutnya, ke dalam campuran tersebut diteteskan 10 tetes reagen Liebermann–Burchard. Hasil uji dinyatakan positif triterpenoid apabila terbentuk cincin berwarna kecokelatan, merah, atau violet, sedangkan keberadaan

steroid ditunjukkan oleh munculnya warna hijau (Kusterer *et al.*, 2018).

b. Parameter nonspesifik

a. Kadar air

Penetapan kadar air dilakukan menggunakan moisture balance (*moisture analyzer*) berdasarkan prinsip gravimetri. Sebanyak 5 g madu ditimbang dan masukan dalam cawan kemudian dipanaskan pada suhu 105°C selama 1 jam atau hingga alat menunjukkan bobot konstan (*constant weight*). Setiap sampel dianalisis sedikitnya dalam tiga kali pengulangan, kemudian dihitung nilai rata-ratanya. Berdasarkan SNI 8664:2018, kadar air madu tidak melebihi 22%. Metode ini bekerja berdasarkan prinsip kehilangan massa akibat penguapan air selama proses pemanasan dan memiliki prinsip yang setara dengan metode gravimetri pengeringan hingga bobot konstan (Mustar *et al.*, 2025).

b. Kadar abu.

Cawan kosong terlebih dahulu dikeringkan di dalam oven pada suhu 105 °C selama 30 menit, kemudian didinginkan menggunakan eksikator dan ditimbang. Sebanyak 2–3 g sampel dimasukkan ke dalam cawan, selanjutnya dipijarkan di atas pembakar hingga menjadi arang dan diabukan menggunakan tanur listrik pada suhu 550 °C selama 2 jam. Setelah proses pengabuan, cawan yang berisi abu didinginkan dan ditimbang hingga diperoleh bobot konstan (Farmakope Herbal, 2017). Berdasarkan Standar Nasional

Indonesia (SNI) Madu nomor 8664 tahun 2018, kadar abu madu yang diperbolehkan maksimum sebesar 0,5%. Kadar abu dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan :

W= bobot sampel sebelum diabukan (g)

W1=bobot sampel + cawan yang sesudah diabukan (g)

W2= bobot cawan kosong (g)

c. Kadar abu tidak larut asam

Sebanyak 2–3 g bahan uji ditimbang secara saksama, kemudian dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara. Sampel dipijarkan secara perlahan hingga seluruh bagian organikny menjadi arang dan habis terbakar. Apabila arang belum hilang sempurna, ditambahkan air panas, diaduk, lalu disaring menggunakan kertas saring bebas abu. Kertas saring beserta residunya dipijarkan kembali dalam krus yang sama. Filtrat dimasukkan ke dalam krus, diuapkan dan dipijarkan hingga diperoleh bobot tetap. Kadar abu total dihitung berdasarkan berat bahan uji dan dinyatakan dalam persen bobot per bobot (b/b%).

Penetapan kadar abu tidak larut asam dilakukan dengan mendidihkan abu hasil penetapan kadar abu total menggunakan 25 mL asam klorida encer LP selama 5 menit. Residu yang tidak larut

asam dikumpulkan, disaring melalui kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas, kemudian dipijarkan kembali dalam krus hingga mencapai bobot konstan . Kadar abu tidak larut asam dihitung terhadap berat bahan uji dan dinyatakan dalam persen bobot per bobot (b/b%) (Farmakope Herbal, 2017).

$$\text{Kadar} = \frac{\text{berat abu sisa pijar}}{\text{berat bahan}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar abu tidak larut asam} = \frac{\text{berat abu sisa pijar}}{\text{berat bahan}} \times 100\%$$

I. Analisis data

Data hasil pengamatan karakterisasi madu dianalisis secara deskriptif.