

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang akan dilakukan adalah penelitian deskriptif analitik untuk mengetahui efektivitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) menggunakan metode CUPRAC.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Bahan Alam dan laboratorium Kimia Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKES) Borneo Lestari Banjarbaru. Waktu penelitian dilakukan mulai dari bulan Maret sampai Mei 2022.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel bebas : Konsentrasi dari ekstrak etanol 70% daun durian.

Variabel terikat : Nilai kapasitas antioksidan ekstrak etanol 70% daun durian.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang pengaduk, blender, botol coklat, corong pisah, cawan penguap, gelas beker (*Pyrex*[®]), kertas perkamen, kertas saring, kuvet, labu ukur, *mikropipet*, neraca analitik (*Scout Pro*[®]), pipet tetes, pipet ukur (*Pyrex*[®]), *ratory evaporato*, sendok

tanduk, spatula, spektrofotometer UV-Vis (*T60*[®]), tabung reaksi (*IWAKI*[®]), tip, dan *waterbath* (*Memmert*[®]).

3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) yang berasal dari Kalimantan Selatan, amil alcohol, asam asetat (CH_3COOH), asam klorida (HCl), *aquadest*, besi (III) klorida (FeCl_3) 5%, buffer ammonium asetat (NH_4Ac), etanol 70%, etanol p.a, kuersetin ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$), neokuproin (Nc), serbuk magnesium (Mg) dan tembaga (II) klorida dihidrat ($\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pengambilan Bahan

Daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) diperoleh dari daerah Guntung Damar, Kecamatan Landasan Ulin, Kota Banjarbaru, Provinsi Kalimantan Selatan. Daun durian yang digunakan adalah daun tua yang memiliki warna hijau tua dengan panjang kurang lebih 13 cm, bagian yang digunakan mulai dari daun, tulang daun, dan helaian daun (Muyasaroh, 2018).

3.5.2 Determinasi Daun Durian (*Durio zibethinus* Murr.)

Determinasi daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) dilakukan di Lab dasar FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Kalimantan Selatan. Tujuan determinasi dilakukan untuk mengetahui kebenaran identitas dari tanaman durian.

3.5.3 Penyiapan Sampel

Daun durian yang telah diperoleh dibersihkan menggunakan air bersih yang mengalir lalu dikeringkan di bawah sinar matahari setelah kering lalu dihalus (Amir & Saleh, 2014).

3.5.4 Pembuatan Ekstrak Daun Durian

Sampel daun durian sebanyak 200 gram yang telah halus diekstraksikan dengan etanol 70%, menggunakan metode maserasi yaitu merendam sampel daun durian dengan pelarut etanol 70% sebanyak 500 mL. Ekstraksi dilakukan 2 x 24 jam dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil ekstraksi kemudian dipisahkan dari pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* dan dipekatkan menggunakan *waterbath* pada suhu 60°C sehingga diperoleh ekstrak kental dan didapatkan bobot tetap (Chigurupati 2021; Ramadhan dkk., 2020).

Rendemen ekstrak dihitung dengan menggunakan rumus : (Dewatisari dkk., 2017).

$$\% \text{ Rendemen simplisia} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$$

3.5.5 Analisa Kualitatif Skrining Fitokimia

3.5.5.1 Uji Flavonoid

Menambahkan ekstrak etanol 70% daun durian 0,5 gram dilarutkan dengan etanol p.a lalu ditambah dengan serbuk magnesium 0,2 gram, lalu meneteskan 1-2 tetes asam klorida (HCl) dan amil alkohol 1 mL. Dalam

waktu 2-5 menit bila terjadi perubahan warna kuning maka menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Mahmudah, 2021).

3.5.5.2 Uji Fenol

Meneteskan ekstrak etanol 70% daun durian sebanyak 0,5 gram dengan 2-3 tetes besi (III) klorida (FeCl_3) 5%. Perhatikan perubahan warna, pada senyawa fenol memberikan warna hijau hingga hijau (Mahmudah, 2021; Nugrahani dkk., 2016).

3.5.6 Analisis Kuantitatif Ekstrak Daun Durian

3.5.6.1 Penyiapan Larutan CUPRAC

Membuatkan larutan CuCl_2 0,01 M dengan melarutkan tembaga (II) klorida dihidrat ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) sebanyak 0,0426 gram melarutkan dalam labu ukur 25 mL dengan. Kemudian pada pembuatan larutan neocuproin (Nc) 0,0075 M dengan menimbang sebanyak 0,0390 gram, melarutkannya ke dalam etanol *p.a* menggunakan labu ukur 25 mL. Pembuatan larutan buffer amonium asetat (NH_4Ac) 1 M pH 7 dengan menimbang sebanyak 1,9273 gram kemudian melarutkannya dengan aquadest dalam labu ukur 25 mL (Munadiah, 2017).

3.5.6.2 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum CUPRAC

Masukkan kedalam vial sebanyak 1 mL tembaga (II) klorida dihidrat ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0,01 M, 1 mL larutan neocuproin (Nc) 0,0075 M dan 1 mL Buffer ammonium asetat (NH_4Ac) 1 M pH 7, kemudian ditambahkan 0,1 mL etanol *p.a* dan aquadest 1 mL. Diamkan selama 30 menit, kemudian

diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-600nm (Utami, 2019).

3.5.6.3 Pembuatan Larutan Blanko CUPRAC

Masukkan ke dalam tabung reaksi 1 mL tembaga (II) klorida dihidrat ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0,01 M, 1 mL larutan neocupron (Nc) 0,0075 M dan 1 mL Buffer ammonium asetat (NH_4Ac) 1 M pH 7, ditambahkan 1 mL etanol *p.a* (pro analisa), selanjutnya tambahkan aquadest 1 mL. Kemudian didiamkan selama 30 menit (Utami, 2019).

3.5.6.4 Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

Menimbang kuersetin ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$) sebanyak 10 mg, kemudian melarutkan menggunakan etanol *p.a* sebanyak 10 mL (1000 ppm) dari larutan kuersetin diencerkan 100 ppm diberi seri konsentrasi larutan yaitu 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, dan 5 ppm sebanyak 10 ml. (Fiteri, 2021; Mahmudah, 2021).

Masing-masing seri larutan kuersetin diambil sebanyak 1 ml dimasukkan kedalam vial. Dimasukkan masing-masing ke dalam vial dan ditambahkan 1 mL tembaga (II) klorida dihidrat ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0,01 M, 1 mL Neokuproin (Nc) 0,0075 M, 1 mL Buffer ammonium asetat (NH_4Ac) 1 M pH 7 dan 0,1 mL aquadest. Diamkan selama 30 menit, lalu absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Ramadhan dkk., 2020).

3.5.6.5 Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Daun Durian (*zibethinus* Murr.)

Pembuatan larutan uji ekstrak etanol daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) dengan menimbang 25 mg dan dilarutkan dengan etanol 70%, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL sampai tanda batas (1000 ppm) dari larutan induk diberi seri konsentrasi 10 ppm sebanyak 10 mL (Asvia, 2021).

Masing-masing replikasi larutan uji diambil sebanyak 1 ml dimasukan kedalam vial. Dimasukkan masing-masing ke dalam vial dan ditambahkan 1 mL tembaga (II) klorida dihidrat ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0,01 M, 1 mL Neokuproin (Nc) 0,0075 M, 1 mL Buffer ammonium asetat (NH_4Ac) 1 M pH 7 dan 0,1 mL aquadest. Diamkan selama 30 menit, lalu absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Ramadhan dkk., 2020).

3.6 Analisis Data

3.6.1 Penentuan Nilai Kapasitas Antioksidan

Analisis data metode CUPRAC diukur menggunakan kapasitas antioksidan, yang bertujuan untuk mengetahui tingkat besarnya kapasitas antioksidan pada metode CUPRAC. Hasil pengukuran kurva baku kuersetin di lihat antara kadar dan absorbannya, sehingga dapat diperoleh persamaan regresi linier yang akan dilanjutkan dengan perhitungan kapasitas antioksidan (Munadiah, 2017).

Adapun rumus regresi linier sebagai berikut:

$$y = ax + b$$

Keterangan :

y = Absorbansi sampel

x = Konsentrasi sampel

Adapun rumus kapasitas antioksidan sebagai berikut:

$$\text{Kapasitas Antioksidan} : \frac{V \text{ sampel} \times [\text{sampel}] \times Fp}{\text{Berat ekstrak (g)}}$$

Hasil uji yang didapatkan dari rumus perhitungan kadar dapat dinyatakan sebagai mg/g ekuivalen kuersetin (EQ).