

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis dan rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui perbandingan kadar total dari ekstrak etanol 96% daun kluwih (*Artocarpus camansi*) hasil ekstraksi menggunakan metode maserasi dan sokhletasi.

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan mulai Januari – Mei 2024 dan lokasi yang digunakan untuk penelitian yaitu Laboratorium Bahan Alam dan Laboratorium Kimia Universitas Borneo Lestari Banjarbaru.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Pohon kluwih (*Artocarpus camansi*) yang terdapat di Kelurahan Guntung Paikat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan

3.3.2 Sampel

Sampel daun kluwih (*Artocarpus camansi*) diperoleh dari Kelurahan Guntung Paikat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan. Sampel yang digunakan berupa daun hijau yang segar dan masih ada di pohonnya.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini merupakan variasi konsentrasi ekstrak dari masing-masing hasil ekstraksi dengan maserasi dan sokhletasi.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar flavonoid total ekstrak etanol 96% daun kluwih.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bejana maserasi, batang pengaduk, blender (Sharp®), cawan penguap, gelas ukur (Pyrex®), kuvet (Quartz Cuvette®), labu ukur (Pyrex®), tabung reaksi (Pyrex®), mikropipet (Dragon Lab®), alat sokhlet, pengayak, pipet tetes, kertas saring, *rotary evaporator* (IKFR 10®), Spektrofotometer UV-Vis (PG Instrument®), *waterbath* (Memmert®), timbangan analitik (Fujitsu®).

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Daun kluwih (*Artocarpus camansi*), etanol 96%, etanol p.a (Merck®), kuersetin (Sigma aldrich®), Aluminium (III) klorida (Merck®), asam asetat (Merck®), aquades, asam klorida (HCl) (Merck®), Serbuk magnesium.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Determinasi Sampel

Sampel daun, batang dan buah kluwih di Determinasi di Laboratorium Dasar FMIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru, Kalimantan Selatan.

3.6.2 Pengambilan dan Pembuatan Simplisia Daun Kluwih (*Artocarpus camansi*)

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tumbuhan daun kluwih, diambil dari Kelurahan Guntung Paikat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan, diambil pada tanggal 26 Desember 2023 pada jam 09.16 WITA. Pengambilan daun kluwih yang digunakan sebagai simplisia yaitu bagian daun dengan kriteria daun masih segar. Berwarna hijau muda, diambil 1-2 tangkai dari pucuk. Daun kluwih yang telah diambil dan dikumpulkan kemudian dilakukan sortasi basah untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya dari daun, lalu dilakukan pencucian dengan air mengalir untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada daun setelah itu daun di rajangan untuk mempermudah proses pengeringan. Proses selanjutnya yaitu pengeringan dengan cara daun dikering-anginkan pada ruangan yang bebas dari sinar matahari langsung hingga kering. Setelah kering dilakukan sortasi kering untuk memisahkan benda asing seperti bagian daun yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Selanjutnya simplisia

dihaluskan menggunakan blender kemudian diayak menggunakan mesh 40 (Puspitasari & Prayogo, 2017) .

Untuk wadah penyimpanan yang memungkinkan terjadinya kerusakan pada simplisia maka dipilih wadah yang bersifat tidak beracun dan tidak bereaksi dengan simplisia sehingga tidak menyebabkan terjadinya reaksi penyimpangan warna, bau dan rasa. Untuk penyimpanan serbuk simplisia menggunakan wadah tertutup rapat dan disimpan pada suhu ruang.

3.6.3 Pembuatan Ekstrak Daun Kluwih (*Artocarpus camansi*)

a. Maserasi

Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 250 gram, kemudian simplisia dimasukkan kedalam bejana maserasi lalu ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 1.250 L. Simplisia diekstraksi selama 24 jam pada suhu ruang dan diaduk sesekali setiap 6 jam, setelah 24 jam dilakukan penyaringan dengan menggunakan kain flannel. Kemudian ampas disari kembali dengan pelarut yang baru dan dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali pengulangan dengan prosedur dan perbandingan yang sama. Ekstrak cair yang diperoleh lalu dipisahkan pelarut dengan ekstrak menggunakan *rotary evaporator*, kemudian diuapkan diatas *waterbath* hingga terbentuk ekstrak kental (Sutomo *et al.*, 2016). Rendemen ekstrak dapat dihitung dengan rumus:

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

b. Sokhletasi

Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 50 gram simplisia dan dibungkus dengan kertas saring, ikat kedua bagian ujungnya dengan benang, lalu masukkan ke dalam tabung soxhlet, tambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 500 mL. Proses ekstraksi dilakukan dengan suhu 60°C sampai tetesan siklus menjadi jernih. Kemudian dilakukan pemisahan ekstrak dengan pelarut menggunakan *rotary evaporator*, setelah itu ekstrak di uapkan menggunakan *waterbath* pada suhu 50°C. sehingga diperoleh ekstrak kental, ekstrak ditimbang, kemudian ditentukan nilai rendemennya (Candra *et al.*, 2021). Rendemen ekstrak dapat dihitung dengan rumus:

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

3.6.4 Skrining Fitokimia

a. Uji Flavonoid

Sampel ditimbang dengan 0,1 gram dilarutkan dengan pelarutnya ditambahkan dengan 2 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat setelah itu ditambahkan dengan amil alkohol. Hasil positif apabila warna menjadi merah, kuning atau jingga (Ramadhan *et al.*, 2020).

3.6.5 Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kluwih (*Artocarpus camansi*)

a. Pembuatan Larutan Induk Kuersetin

Pembuatan Larutan Baku Induk Kuersetin 1000 ppm
Sebanyak 10 mg kuersetin dilarutkan dengan etanol p.a, lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm (Septiani *et al.*, 2021).

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan induk kuersetin diambil sebanyak 1 mL dengan pipet, lalu larutan induk dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan tambahkan etanol p.a sampai tanda batas, agar konsentrasi yang terbentuk adalah 100 ppm. Larutan kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL, ditambahkan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Lakukan pembacaan absorbansi dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 - 500 nm (Fangohoy *et al.*, 2019).

c. Penentuan *Operating Time*

Penelitian ini tidak melakukan *operating time* dan mengacu pada beberapa jurnal yang menyatakan bahwa kuersetin stabil pada menit ke-30 (Susilowati & Sari, 2021; Suharyanto & Hayati, 2021; Ramadhani *et al.*, 2021; Syifa *et al.*, 2022; Winata *et al.*, 2023; Pravita & Dhurhanian, 2023).

d. Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Larutan induk 1000 ppm diencerkan ke 100 ppm lalu diambil sebanyak 3; 4; 5; 6; dan 7 mL, kemudian larutan induk kuersetin dimasukkan pada masing masing labu ukur 10 mL dan tambahkan etanol p.a sampai tanda batas. Sehingga menghasilkan larutan seri kadar 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm dan 70 ppm (Sukmawati, 2018).

Larutan seri kadar diambil yang telah dibuat masing masing sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan 1 mL $AlCl_3$ 10% dan 8 mL asam asetat 5%, diinkubasi selama 30 menit dan absorbansinya di ukur menggunakan Spektrofotometer UV -Vis.

e. Penetapan Kadar Flavonoid Total dalam Ekstrak Etanol 96% Daun Kluwih (*Artocarpus camansi*)

Ekstrak daun kluwih diambil sebanyak 10 mg, dilarutkan dengan etanol didalam labu ukur 10 ml sehingga terbentuk konsentrasi larutan 1000 ppm, direaksikan dengan 1 mL $AlCl_3$ 10% dan 8 mL asam asetat 5%, lalu diinkubasi selama 30 menit dan absorbansinya diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis (Sukmawati, 2018).

3.7 Analisis Data

Nilai absorbansi larutan uji dimasukkan ke dalam regresi linier $y = bx + a$ larutan standar kuersetin, dimana y merupakan absorbansi larutan uji dan x konsentrasi total flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun kluwih. Kadar total flavonoid ditunjukkan dengan dinyatakan sebagai total kuersetin ekuivalen per 1 mg ekstrak (mgQE/g) (Rosita *et al.*, 2017). Kadar total flavonoid dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Kadar Flavonoid Total} = \frac{C \times V \times Fp}{M} \times 100\%$$

Keterangan :

C : Konsentrasi ekstrak (mg/L)

V : Volume (L)

M : Berat ekstrak (g)

Fp : Faktor Pengenceran