

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui perbandingan flavonoid total dari ekstrak etanol 96% daun Pidada Merah (*Sonneratia caseolaris* L) yang di ekstraksi menggunakan metode maserasi dan sokletasi.

3.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan mulai Januari-Mei 2024 dan lokasi yang digunakan untuk penelitian adalah :

- a. Laboratorium Bahan Alam Universitas Borneo Lestari (UNBL) untuk melakukan proses ekstraksi daun pidada merah (*Sonneratia Caesolaris* L).
- b. Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Borneo Lestari (UNBL) untuk melakukan skrining fitokimia senyawa flavonoid dari ekstrak etanol 96% daun pidada merah (*Sonneratia caseolaris*) serta pembuatan larutan uji)
- c. Ruang Instrumen Universitas Borneo Lestari (UNBL) untuk melakukan pengukuran absorbansi untuk menentukan kadar total flavonoid dari ekstrak etanol 96% daun pidada merah (*Sonneratia caseolaris*) menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Pohon Pidada Merah (*Sonneratia Caseolaris* L) yang terdapat di Bawah Alajung Kecamatan Kurau Kabupaten Tanah Laut Kalimantan Selatan.

3.3.2 Sampel

Sampel daun Pidada Merah (*Sonneratia Caseolaris* L) diperoleh di Bawah Alajung Kecamatan Kurau Kabupaten Tanah Laut Kalimantan Selatan.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

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

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar flavonoid total ekstrak etanol 96% daun Pidada Merah (*Sonneratia caseolaris*)

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat

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

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun pidada merah (*Sonneratia Caesolaris* L) , etanol 96%, etanol p.a (*Merck**), kuersetin (*Sigma aldrich**), besi (III) klorida (FeCl_3) (*Merck**), , Aluminium (III) klorida (AlCl_3) (*Merck**), asam asetat (*Merck**), aquades, Natrium hidroksida NaOH (*Merck**), asam klorida (HCl) (*Merck**), Serbuk Magnesium.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian daun tanaman pidada merah (*Sonneratia caseolaris* L) di ambil jam 09.00, diperoleh di Bawah Alajung, Tanah laut, Kalimantan Selatan.

3.6.2 Determinasi Sampel

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

3.6.3 Pembuatan Simplisia Daun Pidada Merah (*Sonneratia caseolaris*)

500 gram sampel tanaman daun pidada merah (*Sonneratia caesolaris*) yang sudah dikumpulkan dilakukan proses sortasi basah yang dimana sampel dicuci dengan air bersih yang mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada sampel. Selanjutnya dilakukan perajangan untuk mempermudah proses pengeringan Setelah itu, daun dikeringkan di bawah sinar matahari dan ditutup kain hitam. Setelah daun kering, sampel dihaluskan sampai menjadi serbuk kemudian diayak dengan mesh 40 (Fuentes *et al.*, 2020).

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.

$$\%Rendemen\ Simplisia = \frac{Bobot\ simplisia\ (akhir)}{Bobot\ bahan\ baku\ (awal)} \times 100\%$$

3.6.4 Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Daun Pidada Merah (*Sonneratia caseolaris*)

a. Maserasi

Serbuk simplisia kering daun pidada merah sebanyak 100 gram dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 500 mL selama 1x24 jam dan sesekali melakukan pengadukan setiap 6 jam. Setelah 24 jam selanjutnya melakukan penyaringan, kemudian melakukan pengulangan maserasi sebanyak 2x selama 1x24 jam dengan menggunakan pelarut sebanyak 500 mL pada hari kedua dan ketiga. Hasil maserasi dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60°C yang dilanjutkan dengan waterbath sampai diperoleh ekstrak kental dan dihitung % rendemennya (Novindriani *et al.*, 2019). Adapun rumus perhitungan rendemennya sebagai berikut :

$$\%Rendemen Ekstrak = \frac{Bobot\ total\ ekstrak}{Bobot\ total\ serbuk} \times 100\%$$

b. Sokletasi

Alat sokletasi dipasang, kemudian serbuk daun pidada merah 50 gram dibungkus dengan kertas saring, diikat dengan benang, dimasukkan kedalam labu alas bulat pada soklet, tambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 250 mL. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60° C

sampai diperoleh ekstrak kental etanol yang dilanjutkan dengan waterbath sampai diperoleh ekstrak kental dan dihitung % rendemennya. Adapun rumus perhitungan rendemennya sebagai berikut :

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

3.6.5 Skirining Fitokimia

a. Uji Flavonoid

Sampel ditimbang dengan 0,1 gram dilarutkan dengan pelarutnya ditambahkan dengan 2 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat. Hasil positif apabila warna menjadi merah, kuning atau jingga (Ramadhan *et al.*, 2015).

3.6.6 Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Pidada Merah (*Sonneratia caesolaris*)

a. Pembuatan Larutan Induk Kuersetin

Sebanyak 10 mg kuersetin diambil kemudian kuersetin dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan tambahkan etanol p.a sampai tanda batas 10 ml, sehingga memperoleh konsentrasi larutan induk 1000 ppm (Sukmawati, 2018).

b. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimal

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 dipipet sebanyak 1 mL, kemudian tambahkan dengan 1 mL $AlCl_3$ 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Selanjutnya dilakukan pembacaan absorbansi dengan Spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 400 sampai 500 nm (Ulya, 2020).

c. *Operating Time*

Dalam penelitian ini tidak dilakukan *operating time* namun, mengacu dari beberapa jurnal yang menyebutkan bahwa kuersetin stabil pada menit ke 30 (Ramadhan *et al.*, 2021., Ulya 2018., Sukmawati, 2018., Warono *et al.*,2019., Kadji *et al.*, 2013).

d. Pembuatan Kurva Baku Kuersetin

Larutan 1000 ppm diencerkan ke 100 ppm 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 vial gelap, lalu ditambahkan dengan 1 mL $AlCl_3$ 10% dan 8 mL asam asetat 5%.

Diinkubasi selama 30 menit yang di dapatkan dari spektrofometer UV-Vis.

e. Pengukuran Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun

Pidada Merah (*Sonneratia caseolaris* L)

Diambil serbuk simplisia 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 diukur absorbansi dengan Spektrofotometri UV-Vis hasil operating time yang di dapatkan dari spektrofotometer UV-Vis (Sukmawati, 2018).

f. Analisis Data

Data deret konsentrasi yang dibuat dari baku kuersetin kemudian dibuat persamaan kurva baku. Persamaan kurva baku $y = bx + a$ alarutan standar kuersetin, dimana y merupakan absorbansi larutan uji dan x konsentrasi total flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun pidada merah. kadar total Flavonoid dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$Kadar\ total\ flavonoid = \frac{C \times V \times Fp}{M}$$

Keterangan:

C : Konsentrasi Kuersetin

V : Volume Esktrak

M : Berat Esktrak

Fp : Faktor Pengenceran