

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui kadar flavonoid total ekstrak etanol 96% daun Durian (*D. zibethinus* Murr. varr. *Bangkok*). Pada penelitian ini menggunakan pemeriksaan laboratorium secara kualitatif dengan pereaksi dan kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Vis.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian dimulai bulan Desember 2021 hingga Mei 2022 dan tempat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Laboratorium Bahan Alam dan Laboratorium Kimia Farmasi STIKES Borneo Lestari Banjarbaru.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Variabel bebas pada penelitian ini yaitu ekstrak etanol 96% daun Durian (*D. zibethinus* Murr. varr. *Bangkok*).
- b. Variabel terikat pada penelitian ini yaitu kadar flavonoid total dari ekstrak etanol 96% daun Durian (*D. zibethinus* Mur. varr. *Bangkok*).

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat maserasi, batang pengaduk, blender, cawan penguap, corong kaca, gelas kimia,

gelas ukur, kaca arloji, kuvet, labu ukur, pipet tetes, pipet mikro, *rotary evaporator*, sendok tanduk, seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis, stopwatch, tabung reaksi, timbangan analitik, vial, dan *waterbath*.

3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah AlCl_3 , Amil alkohol, Aquadest, Asam Asetat, Daun durian (*D. zibethinus* Murr. varr. *Bangkok*), Etanol 96%, Etanol p.a, HCl, Kuersetin, Mg, NaOH, Pb asetat.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pengambilan Bahan

Daun durian (*D. zibethinus* Murr. varr. *Bangkok*) diperoleh dari Desa Guntung Damar Landasan Ulin Banjarbaru, Kalimantan Selatan. Bagian yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun yang berwarna hijau tua, utuh dan berukuran sama. Bagian yang digunakan seluruh bagian daun durian (*D. zibethinus* Murr. varr. *Bangkok*) mulai dari tangkai daun, tulang daun, dan helaian daun.

3.5.2 Determinasi Tumbuhan Durian (*Durio zibethinus* Murr. varr. *Bangkok*)

Determinasi tanaman Durian (*D. zibethinus* Murr. varr. *Bangkok*) dilakukan di Laboratorium Dasar Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru.

3.5.3 Pembuatan Simplisia Daun Durian (*Durio zibethinus* Murr. varr. *Bangkok*)

Daun durian (*D. zibethinus* Murr. varr. *Bangkok*) yang telah dikumpulkan, dilakukan proses sortasi basah, kemudian dicuci dengan air yang bersih dan mengalir. Setelah dicuci, daun durian (*D. zibethinus* Murr.

varr. *Bangkok*) dipotong kecil-kecil agar proses pengeringannya cepat dan merata, kemudian daun durian (*D. zibethinus* Murr. varr. *Bangkok*) dikeringkan dengan sinar matahari langsung dan ditutupi kain hitam. Daun durian (*D. zibethinus* Murr. varr. *Bangkok*) yang telah kering, dilakukan sortasi kering, kemudian hasil simplisia dihaluskan diayak dengan ukuran *mesh* 40, ditimbang dan disimpan kedalam wadah yang tertutup baik dan rapat.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot serbuk simplisia}}{\text{Bobot daun durian segar}} \times 100\%$$

3.5.4 Pembuatan Ekstrak Daun Durian (*Durio zibethinus* Murr. varr. *Bangkok*)

Sebanyak 200 gram simplisia daun durian (*D. zibethinus* Murr. varr. *Bangkok*) dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1000 mL selama 3 x 24 jam direndam dan dilakukan pengadukan setiap 8 jam. Ekstrak yang diperoleh disaring dan ampas diremaserasi kembali sebanyak 1 kali menggunakan metode yang sama dengan pelarut yang baru.

Ekstrak cair daun durian (*D. zibethinus* Murr. varr. *Bangkok*) yang didapatkan, dikumpulkan dan dipisahkan antara pelarut dan ekstrak dengan *rotary evaporator* pada suhu 40-45°C selanjutnya dikeringkan dengan menggunakan *waterbath* pada suhu 40-45°C sampai didapat ekstrak sampai bobot tetap (Ningsih dkk., 2017). Selanjutnya dilakukan pengukuran rendemen ekstrak daun durian (*D. zibethinus* Murr. varr. *Bangkok*) yang didapatkan dengan rumus berikut:

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

3.5.5 Identifikasi Senyawa Flavonoid dengan Metode Skrining Fitokimia

A. Uji Flavonoid

- Uji flavonoid dengan Mg + HCl + amilakohol

Sebanyak 0,1 g sampel dimasukkan kedalam gelas kimia kemudian ditambahkan 10 ml aquadest dipanaskan sampai mendidih selama 5 menit. Setelah itu, disaring dan filtratnya digunakan sebagai larutan uji. Filtrat dimasukan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan Mg 0,1 mg, 1 ml HCl pekat dan 1 ml amilalkohol kemudian dikocok dengan kuat. Uji positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amilalkohol (Nugrahani dkk., 2016).

- Uji flavonoid dengan Pb asetat dan NaOH

Sebanyak 1 ml larutan uji masing-masing dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung 1 sebagai kontrol, tabung 2 ditambah dengan 1 mL larutan Pb Asetat (timbang asetat) 10%, positif flavonoid jika terdapat endapan kuning (Ejoba, 2012). Tabung 3 ditambah dengan beberapa tetes NaOH 20% terbentuk warna kuning jika mengandung flavonoid (Ugochukwu dkk., 2013).

3.5.6 Penentuan Kadar Flavonoid

a. Pembuatan Larutan Induk Kuersetin 1000 ppm

Dibuat seri kadar dengan kuersetin sebagai baku standar, ditimbang 100 mg kuersetin dilarutkan kedalam labu ukur 100 ml, tambahkan etanol p.a sampai tanda batas labu ukur 100 ml, didapatkan larutan induk 1000 µg/ml (Sari & Ayuhecacia, 2017).

b. Pembuatan Larutan Baku Kerja Kuersetin 100 ppm

Larutan baku induk dipipet sebanyak 1 ml dan dicukupkan volumenya sampai 10 ml dengan etanol p.a sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm (Hani & Novena, 2019).

c. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Diambil 1 ml larutan baku kerja kuersetin 100 ppm ditambahkan dengan 1 ml AlCl_3 10% dan 8 ml asam asetat 5%. Lakukan pembacaan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 370-450 nm (Sari & Ayuchecaria, 2017); (Asmorowati & Lindawati, 2019); (Estikawati, 2019).

d. Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Larutan baku induk kuersetin 100 ppm dipipet, kemudian dibuat 5 seri konsentrasi yaitu 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, dan 120 ppm, kemudian ditambahkan etanol p.a sampai volumenya 10 ml. Sebanyak 1 mL larutan seri kadar dari masing-masing konsentrasi direaksikan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Didiamkan selama *operating time*. Absorbansi ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Ipandi dkk., 2016); (Asmorowati & Lindawati, 2019); (Sari & Ayuchecaria, 2017).

e. Penentuan Flavonoid Total Ekstrak Etanol 96% Daun Durian (*Durio zibethinus* Murr.)

Ditimbang 25 mg ekstrak etanol 96% daun durian dan dilarutkan dalam 25 ml etanol p.a sehingga diperoleh konsentrasi larutan ekstrak 1000 ppm. Sebanyak 1 mL sampel larutan ekstrak etanol 96% daun

durian dari 1000 ppm dimasukkan kedalam tabung reaksi tambahkan 1 mL AlCl_3 10% dan ditambahkan 8 mL Asam Asetat 5%, kemudian didiamkan selama *operating time* dan dibaca absorbansinya pada spektrofotometri *UV-Vis* pada panjang gelombang maksimum yang di dapatkan (Ipandi dkk., 2016); (Sari & Ayuhecaria, 2017).

3.5.7 Analisis Data

Data deret konsentrasi yang dibuat dari baku kuersetin kemudian dibuat persamaan kurva baku. Persamaan kurva baku $y = bx + a$ dengan $y =$ absorbansi dalam nm, $x =$ kadar dalam ppm (mg/L). Absorbansi ekstrak etanol 96% daun Durian (*D. zibethinus* Murr. varr. *Bangkok*) yang telah diperoleh dimasukkan ke dalam persamaan kurva baku, kemudian dimasukkan dalam rumus penentuan kadar flavanoid sehingga didapatkan kadar flavanoid total daun Durian (*D. zibethinus* Murr. varr. *Bangkok*) dalam satuan mg ekuivalen kuersetin/g ekstrak (Puspitasari, 2016). Perhitungan kadar flavanoid (Syamsul, 2019) menggunakan rumus :

$$\text{Kandungan Flavonoid Total} = \frac{C \times V}{M}$$

Keterangan : C = Kesetaraan kuersetin (mg/L)

V = Volume total ekstrak etanol (mL)

M = Berat sampel (g)