

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Penelitian ini di kategorikan kedalam ekperimental yakni menguji kadar fenol total dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada sirup daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd), infusa daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*) dan sirup daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) dengan penambahan infusa daun pandan (*Pandanus amaryllifolius*).

3.2. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bahan Alam, Laboratorium Kimia, dan Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi Prodi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Borneo Lestari, Kota Banjarbaru, Kalimantan Selatan. Waktu penelitian dilakukan dari bulan Januari hingga bulan Mei 2024.

3.3. Populasi dan Sampel

3.3.1. Populasi

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman kelakai (*Stenochlaena Palustris* (Burm. F) Bedd) dan pandan (*Pandanus amaryllifolius*) yang berasal dari Landasan Ulin Utara, Lianggang, Kalimantan Selatan.

3.3.2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) yang dijadikan sediaan sirup dan pandan (*Pandanus amaryllifolius*) yang dibuat menjadi ekstrak dengan metode infusa. Adapun sampel yang diuji pada penelitian ini yaitu sirup kelakai, sirup, infusa pandan, dan sirup

kelakai dengan penambahan infusa pandan. Sehingga total keseluruhan ada empat perlakuan sampel yang didapat dari perhitungan menggunakan rumus Federer yaitu:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

Keterangan:

t = banyaknya pengulangan sampel

n = jumlah perlakuan sampel

3.4. Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi uji infusa daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd), konsentrasi uji infusa daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*), konsentrasi uji sirup kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) dan konsentrasi sirup kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) dengan penambahan infusa pandan (*Pandanus amaryllifolius*).

3.4.2. Variabel Terikat

Variable terikat pada penelitian ini adalah kadar fenol total dari infusa daun kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd), infusa daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*), sediaan sirup kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd), dan sirup kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) dengan penambahan infusa pandan (*Pandanus amaryllifolius*).

3.5. Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang pengaduk, beker glass, blender, gelas ukur, kertas saring, kain panel, kuvet, labu ukur, lampu UV,

neraca analitik, pengayak, *hot plate*, Spektrofotometri UV-Vis, tabung reaksi, aluminium foil, mikropipet.

3.5.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) dan daun pandan (*Pandanus amaryllifolius*), asam galat, aquadest, reagen Folin Ciocalteu, metanol p.a, asam besi (III) klorida 1%, Na₂CO₃ 1M, serbuk magnesium, asam sitrat, natrium benzoat, gula, sirup jagung.

3.6. Alur Penelitian

3.6.1. Pengambilan Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd)

Tanaman diperoleh dari Landasan Ulin Utara, Lianggang, Kalimantan Selatan. Bagian tanaman yang diambil dipilih adalah bagian daun pada bagian pucuk atau ujung tumbuhan kelakai dengan kriteria muda, segar, dan berwarna merah.

3.6.2. Determinasi Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd)

Determinasi tanaman merupakan tahap awal yang dilakukan sebelum menuju tahap lebih lanjut pada proses penelitian. Determinasi tanaman merupakan proses dalam menentukan nama/jenis tumbuhan secara spesifik. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru. Hasil determinasi dengan nomor: 317b/LB.LABDASAR/XII/2023 menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan adalah benar daun kelakai (*Stenochlaena Palustris* (Burm. F) Bedd). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran.

3.6.3. Pembuatan Simplisia Tanaman

Daun kelakai dan pandan yang telah dikumpulkan, dilakukan proses sortasi basah, kemudian dicuci dengan air yang bersih dan mengalir. Setelah dicuci,

daun kelakai dipotong kecil-kecil agar proses pengeringannya cepat dan merata, kemudian daun kelakai dilakukan pengeringan dengan cara diangin-anginkan cukup diletakkan pada tempat yang tidak terkena matahari secara langsung pada suhu 15-30°C. Daun kelakai yang telah kering, dilakukan sortasi kering, kemudian hasil simplisia dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan ukuran mesh 40, ditimbang dan disimpan kedalam wadah yang kering tertutup baik dan rapat.

Dilakukan perhitungan rendemen yang diperoleh dengan persentase bobot (b/b) antara ekstrak yang dihasilkan dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan.

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

3.6.4. Formulasi Sirup Kelakai Dengan Penambahan Pandan

Adapun untuk formulasi sirup kelakai dengan penambahan infusa pandan pada penelitian ini yaitu:

Tabel 1. Formulasi Sirup Kelakai dengan Penambahan Infusa Daun Pandan

Bahan	Konsentrasi (% b/v)				
	F0	F1	F2	F3	F4
Infusa Kelakai	0	10	10	10	0
Infusa Pandan	0	0	10	0	10
Gula	15	15	15	0	0
Sirup Jagung	15	15	15	0	0
Asam Sitrat	0,13	0,13	0,13	0	0
Natrium Benzoat	0,2	0,2	0,2	0	0
Air ad	100	100	100	100	100

Sumber: Ismawati, 2022

3.6.5. Pengolahan Sirup Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd)

1. Pembuatan Infusa Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius*)

Daun pandan wangi sebagai penambah aroma dan warna alami pada pembuatan sirup kelakai konsentrasi 10% b/v. Pada daun pandan wangi ditimbang sebanyak 10 gr, kemudian dimasukkan kedalam panci infus dengan

air 200 mL, panaskan diatas tangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90 sambil sesekali diaduk, serkai selagi dingin melalui kain flannel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infusa yang dikehendaki (Firawati & Karlina, 2017).

2. Pembuatan Infusa Serbuk Daun Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd)

Infusa daun kelakai dibuat dengan perbandingan 10g daun kelakai kering dengan air sebanyak 100 mL. Daun kelakai kering dipotong-potong kemudian dimasukkan kedalam air pada suhu 90°C dan dipanaskan selama 15 menit lalu disaring, serkai selagi panas melalui kain flanel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume yang diinginkan (Mawaddah 2019, ananta 2019).

3. Pembuatan Sirup Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) Dengan Penambahan Infusa Pandan (*Pandanus amaryllifolius*)

Pembuatan sirup dimulai dengan memasukkan infusa daun kelakai dan infusa daun pandan kedalam gelas beker, kemudian masukkan gula, sirup jagung, asam sitrat, natrium benzoat. setelah itu dipanaskan diatas *hot plate* sambil diaduk hingga semua terlarut. Setelah gula terlarut matikan *hot plate* kemudian sirup didinginkan lalu masukkan sirup kedalam botol, dan dilakukan uji evaluasi sirup (Palimbong *et al.*, 2020).

3.6.6. Skrining Fitokimia

1. Fenol

Infusa sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan tiga tetes pereaksi besi (III) klorida 1%. Perubahan warna larutan menjadi warna hijau, biru atau ungu menunjukkan adanya senyawa fenol. Pemeriksaan diulang tiga kali (Yohanes *et al.*, 2018).

3.7. Penetapan Kadar Fenol Total

3.7.1. Pembuatan Larutan Induk Asam Galat

Dibuat larutan induk asam galat 1000 ppm dengan cara dilarutkan serbuk asam galat sebanyak 10 mg dalam metanol p.a 10 mL menggunakan labu ukur 10 mL (Paramita *et al.*, 2020). Kemudian larutan baku induk asam galat 1000 ppm diencerkan menjadi 50 ppm dengan mengambil larutan induk asam galat sebanyak 0,5 mL lalu dilarutkan menggunakan metanol p.a 10 mL (Ngibad dkk., 2023).

3.7.2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan baku kerja asam galat konsentrasi 50 ppm diambil sebanyak 0,5 mL dengan menggunakan pipet volume dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL. Kemudian ditambahkan 5 mL pereaksi Folin Ciocalteau (1:10), lalu digojok hingga homogen selama 1 menit. Menit ke-7, ditambahkan 4 mL Na_2CO_3 1M, digojok selama 1 menit dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas dan digojok hingga homogen lalu biarkan selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 hingga 800 nm (Ngibad dkk., 2023; Taufiq Dalming, 2023).

3.7.3. Pembuatan Seri Kadar Kurva Baku Asam Galat

Sebelum melakukan pengukuran dengan spektrofotometri UV-Vis, terlebih dahulu larutan induk asam galat dibuat dengan konsentrasi (30, 40, 50, 60 dan 70 ppm) dari larutan baku masing-masing dipipet 0,3 mL; 0,4 mL; 0,5 mL, 0,6 mL dan 0,7 mL. Kemudian masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian ditambahkan 5 mL pereaksi Folin Ciocalteau (1:10), lalu digojog hingga homogen selama 1 menit. Menit ke-7 masing-masing ditambahkan 4 mL Na_2CO_3 1M, digojok selama 1 menit dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas lalu digojok hingga homogen (Smith *et al.*, 2017). Campuran tersebut

didiamkan selama 30 menit dan absorbansi larutan uji diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Sari & Ayuhecaria, 2017, Suoth *et al.*, 2019; Putri, 2018; Hidayatullah *et al.*, 2023; Luhurningtyas *et al.*, 2021).

3.7.4. Penentuan Kadar Fenol

Sampel infusa kelakai, infusa pandan dalam konsentrasi 10%, sirup kelakai dengan pembahan infusa pandan dibuat menjadi 1000 ppm diambil 1 mL dengan menggunakan pipet volume dan kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. kemudian ditambahkan 5 mL pereaksi Folin Ciocalteau (1:10), lalu digojok hingga homogen selama 1 menit. menit ke-7, ditambahkan 4,0 mL Na₂CO₃ 1M, digojok selama 1 menit dan ditambahkan aquadest dalam kuvet.ukur serapan pada panjang gelombang maksimum asam galat dengan spektrofotometri UV-Vis. Pengukuran juga dilakukan terhadap larutan blanko. Pengukuran dilakukan 3 replika. Kadar senyawa fenol ditemukan dengan regresi dari kurva baku kalibrasi (Smith *et al.*, 2017; Putri, 2018).

3.8. Analisis Data

3.8.1. Analisi Data Kadar Fenol

Analisis data menggunakan persamaan regresi linier dengan memasukan nilai absorbansi larutan uji ke dalam rumus regresi linier $y = bx + a$ dengan larutan standar masing-masing (Salmia, 2016). Kadar total fenol ditunjukkan dengan total ekuivalen asam galat per 1 mg ekstrak ($\mu\text{g GAE/mg}$) (Ramadhan *et al.*, 2021).

Kadar total fenol dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\frac{C \times V \times Fp}{M}$$

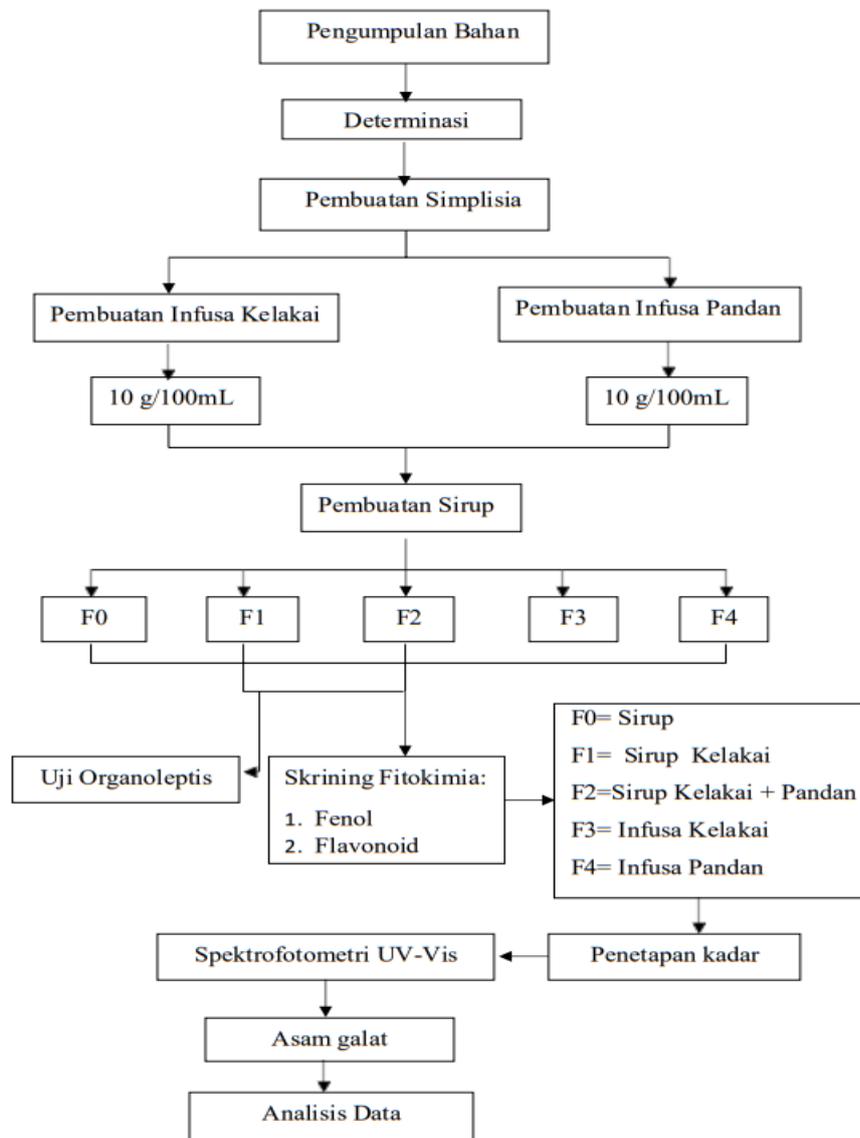
C: Konsentrasi Ekstrak

V: Volume

M: Berat ekstrak

Fp : Faktor Pengenceran

3.9. Alur Penelitian



Gambar 1. Alur Penelitian