

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode penelitian eksperimental laboratorium menggunakan perbandingan metode ekstraksi *untuk* mengetahui jumlah perbedaan rendemen ekstrak dan kadar flavonoid total didalam ekstrak daun Kejibeling (*Strobilanthus crispus*. L Blume).

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu determinasi tumbuhan, pengumpulan bahan, pembuatan serbuk simplisia, melakukan dua metode ekstraksi, analisis kualitatif flavonoid, penentuan kadar flavonoid total dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis, dan analisa data.

#### **3.2 Populasi dan Sampel**

Populasi merupakan keseluruhan dari objek yang akan diteliti. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun Kejibeling (*Strobilanthus crispus* . L Blume) dari UPT Materia Medika Batu.

Sampel merupakan bagian dari populasi yang diteliti. Sampel yang digunakan adalah ekstrak hasil maserasi dan perkolasi daun Kejibeling (*Strobilanthus crispus*. L Blume).

#### **3.3 Lokasi dan waktu penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Maret 2019 hingga Mei 2019. Lokasi penelitian dilaboraturium Farmakognosi Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang.

### 3.4 Definisi Operasional Variabel

Dalam penelitian ini terdapat satu variable yaitu, kadar flavonoid total.

Definisi operasional variabel terdapat pada tabel 3.1, berikut ini :

**Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel**

Variabel	Definisi	Hasil ukur	Alat ukur	Skala ukur
Analisis Kadar flavonoid total	Identifikasi Banyaknya kadar flavonoid pada ekstrak daun Kejibeling ( <i>Strobilanthus crisper</i> L.) dari dua metode ekstraksi	Penetapan Kadar flavonoid total.	Spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang 420 nm	Nominal

### 3.5 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu pipet tetes, neraca analitik, erlemayer, corong kaca, batang pengaduk, kertas saring, corong, gelas kimia, toples kaca gelap, ekstraktor perkolasi, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur, timbangan analitik, spektrofotometri UV-Vis, kuvet, kain kasa steril, water bath, lap dan tisu.

Bahan yang digunakan ekstrak daun Kejibeling, etil asetat, aquadest, Mg, HCl pekat, etanol 70%, larutan kuersetin, etanol p.a, FeCl<sub>3</sub>10%, AlCl<sub>3</sub>10%, natrium asetat 1M, aquades.

### 3.6 Prosedur Penelitian

#### 3.6.1 Pengambilan Bahan

Bagian tumbuhan Kejibeling (*Strobilanthus crisper* L.) yang digunakan pada penelitian ini yaitu bagian daun. Daun Kejibeling dipetik dan ditimbang setelah itu dicatat hasil penimbangan daun Kejibeling yang sudah dipetik dari batangnya.

### 3.6.2 Determinasi Tumbuhan

Determinasi tanaman Kejibeling dilakukan oleh UPT Materia Medica Batu. Klasifikasi tumbuhan keji beling adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae (tumbuhan)

Divisio : Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)

Kelas : Magnoliopida (berkeping dua/dikotil)

Ordo : Scrophulariales

Famili : Acanthaceae

Genus : *Strobilantes*

Spesies : *Strobilanthes crispus* BI

Kunci determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b-248b-249b-250a-251b-253b-254b-255a-256a-257b-259a---1a-2b-7a-8a-9c-10b-18a-1b-2a.

Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar (*Strobilanthes crispus* (L). BI ) yaitu dengan genus *Strobilanthes* dan spesien *Strobilanthes crispus* (L).BI.

### 3.6.3 Pembuatan Serbuk Simplisia

1. Daun Kejibeling yang sudah dipetik lalu di timbang dan di catat hasil penimbangannya
2. Selanjutnya Daun Kejibeling dicuci dengan air dan dilakukan sortasi basah, selanjutnya dilakukan pengubahan bentuk dengan cara di potong –potong kecil.

3. Selanjutnya dikeringkan dengan cara di angin-anginkan selama beberapa hari pada udara terbuka dengan tidak terkena sinar matahari langsung.
4. Setelah kering sampel ditimbang dan di catat berat keringnya
5. Selanjutnya yaitu sortasi kering yang bertujuan untuk memisahkan daun kejobeling dengan benda asing seperti batu, ranting, dan daun tumbuhan lain.
6. Kemudian daun kejobeling diperkecil ukurannya menjadi serbuk dengan cara di blender dan di ayak sesuai ukuran serbuk.

#### 3.6.4 Proses Ekstraksi

##### 3.6.4.1 Metode Maserasi

1. Disiapkan 300 gram serbuk simplisia daun kejobeling, dibagi menjadi 3 bagian per bagian 100 gram
2. Siapkan etanol 70% sebanyak 3000mL di bagi 3 bagian, tiap bagian 1000mL disimpan dalam wadah yang tertutup.
3. Dilakukan ekstraksi dengan perbandingan (1:10) yaitu 100gram serbuk simplisia dimaserasi dalam 1000mL etanol 70% di botol kaca gelap yang kedap udara dan dilakukan pengadukan sesaat, di replikasi sebanyak 3x di lakukan maserasi selama 3 hari.
4. Setelah 3 hari dilakukan proses penyaringan kemudian di pekatkan di atas waterbath selama  $\pm$  24 jam untuk diperoleh ekstrak kental. Hasil ekstrak di timbang dan dihitung hasil akhir dari 3 replikasi.

##### 3.6.4.2 Metode Perkolasi

1. Disiapkan 300gram serbuk simplisia daun kejobeling, di bagi menjadi 3 bagian per bagian 100gram

2. Siapkan etanol 70% sebanyak 3000mL di bagi menjadi 3 bagian, tiap bagian 1000 mL di simpan dalam wadah yang tertutup.
3. Dilakukan ekstraksi dengan perbandingan (1:10) yaitu 100gram serbuk simplisia di perkolasi dalam 1000 mL etanol 70% di replikasi sebanyak 3 kali di larutkan beberapa jam dalam wadah kemudian dilakukan proses perkolasi.
4. Perkolasi di lakukan  $\pm$  8 jam dengan jalan melarutkan pelarut secara perlahan-lahan sehingga pelarut tersebut bisa menembus sampel kemudian di tunggu hingga cairan yang menetes sudah tidak berwarna/ berwarna bening.
5. Hasil dari perkolasi kemudian disaring dan hasil penyaringan dipekatkan hingga menjadi ekstrak kental di atas waterbath selama  $\pm$  24 jam untuk di peroleh ekstrak kental. Hasil ekstrak ditimbang dan dihitung hasil akhir dari 3 replikasi.

### **3.6.5 Analisis Kualitatif Kadar Flavonoid Total**

Sebanyak 25mg ekstrak daun kejobeling ditambahkan dengan serbuk Mg  $\pm$  1gram dan HCl 5ml. Terbentuknya warna merah, orange atau hijau menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Hanani, 2015). Uji ini dilakukan untuk memastikan secara kualitatif adanya senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun kejobeling.

### **3.6.6 Analisis Kuantitatif Kadar Flavonoid Total**

#### **1. Pembuatan Larutan Blanko**

Dibuat campuran 0,1mL natrium asetat 1M dan 2,8mL aquades, 15mL metanol, kemudian di diamkan bereaksi selama 30 menit pada suhu ruangan. Diukur absorbansnya menggunakan panjang gelombang 425 nm (Hanani, 2015).

#### **2. Pembuatan Larutan Standar kuersetin**

Larutan standar quersetin  $100\mu\text{g/mL}$  dibuat dengan cara melarutkan 50mg quersetin ke dalam 25mL metanol p.a. Dibuat larutan dengan konsentrasi berturut-turut  $10\mu\text{g/mL}$ ,  $15\mu\text{g/mL}$ ,  $20\mu\text{g/mL}$ ,  $25\mu\text{g/mL}$ ,  $30\mu\text{g/mL}$ ,  $35\mu\text{g/mL}$ .

### 3. Penentuan Kurva Baku Larutan Standar quersetin

Dari masing-masing konsentrasi ( $10\mu\text{g/mL}$ ,  $15\mu\text{g/mL}$ ,  $20\mu\text{g/mL}$ ,  $25\mu\text{g/mL}$ ,  $30\mu\text{g/mL}$ ,  $35\mu\text{g/mL}$ ). Larutan standar quersetin dipipet 2 mL, kemudian ditambahkan 0,1 mL  $\text{AlCl}_3$  10%, 0,1 ml natrium asetat 1M dan 2,8 mL aquades. Selanjutnya, larutan dikocok dengan baik dan dibiarkan bereaksi selama 30 menit pada suhu ruangan. Diukur Absorbansinya menggunakan panjang gelombang 425nm (Hanani, 2015).

### 4. Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak daun Kejibeling Hasil Maserasi Dan Perkolasi

Ditimbang ekstrak daun kejobeling metode maserasi sebanyak 25mg dan dilarutkan dalam 25mL etanol 96%. Diambil 1mL larutan sample ekstrak daun kejobeling dimasukkan kedalam labu ukur 10mL kemudian di tambahkan 10mL etanol 96% sampai tanda batas.

Ditimbang ekstrak daun kejobeling metode perkolasi sebanyak 25mg dan dilarutkan dalam 25mL etanol 96%. Diambil 1 mL larutan sampel ekstrak kejobeling dimasukkan ke dalam labu ukur 10mL kemudian di tambahkan 10 ml etanol 96% sampai tanda batas.

### 5. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Kejobeling Dengan Spektrofotometri UV-Vis

Larutan sampel ekstrak daun kejobeling hasil maserasi dipipet 1mL dan ditambahkan 3mL etanol 96%, 0,2mL  $\text{AlCl}_3$ , 0,2mL kalium asetat 1 M, dan 5,6mL aquabidestillata. Setelah itu diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar

dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV- Vis dengan panjang gelombang 420 nm. Larutan sampel dibuat dalam tiga kali replikasi.

Larutan sampel ekstrak daun kejjibeling hasil perkolasi dipipet 1mL dan ditambahkan 3mL etanol 96%, 0,2mL  $AlCl_3$ , 0,2 mL kalium asetat 1 M, dan 5,6 mL aquabidestillata. Setelah itu diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 420 nm. Larutan sampel dibuat dalam tiga kali replikasi.

### **3.7 Analisa Data**

Data hasil pengamatan yang diperoleh merupakan data kuantitatif dan dianalisa dengan menggunakan program SPSS metode T-Test sehingga dapat diketahui adanya perbedaan nyata dari perbandingan dua metode ekstraksi daun kejjibeling (*Strobilanthus crisper* L.) terhadap senyawa flavonoid yang dihasilkan.