

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu Dan Tempat Penelitian

3.1.1 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2021 – Juli 2022. Pengambilan data hasil penelitian ini dilakukan pada bulan Juni – Juli 2022.

3.1.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Muhammadiyah Gresik Jalan Proklamasi No.54, Gresik.

3.2 Bahan dan Alat

3.2.1 Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun kemangi (*Ocimum basilicum L*) diambil dari Desa sugio lamongan , Etanol 96% (p.a), AlCl_3 2% (p.a), FeCl_3 1% (p.a), Na Asetat 0,12 M (p.a), Aquades (p.a).

3.2.2 Alat

Alat yang digunakan adalah Blender (*Panasonic*), Beaker glass 250 ml (*Herma*), Beaker glass 100 ml (*Herma*), Cawan porselin, Gelas ukur 500 ml dan 100 ml (*Herma*), Spektrofotometer UV-Vis, Labu ukur 50 ml (*Herma*), Neraca analitik, Timbangan miligram, Pipet tetes, Pipet ukur 10 ml (*Pyrex*), Corong kaca, Toples maserasi, Botol ekstrak, Ayakan/mesh no.45, Batang pengaduk, Pengaduk kayu, Kertas saring, spatel logam, Rotary Evaporator (*BUNCHI B-100*), pipet tetes, Tabung reaksi dan Rak tabung reaksi.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Sampel

Daun kemangi dengan berat 3,5 kg disiapkan. selanjutnya dilakukan sortasi basah untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari simplisia, seperti tanah, rumput, kerikil, bahan tanaman lain, bagian lain dari tanaman, dan bahan yang

rusak. Pembersih dari tanah daat mengurangi jumlah mikroba awal yang terdapat pada tanaman. Kemudian, dilakukan tahap pencucian untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat dan ditiriskan. Kemudian dikeringkan, dengan cara angin-anginkan atau terhindar dari cahaya matahari langsung. Setelah cukup kering, dilakukan sortasi kering pada simplisia tanaman untuk menghilangkan kotoran yang masih tertinggal dengan cara menyeleksi pengotor yang mungkin terikut (Febriansyah, 2017). Setelah proses tersebut simplisia kering dibuat serbuk kasar menggunakan blender dan diayak dengan ayakan No.45, kemudian disimpan di wadah tertutup baik (Zaini dkk, 2020)

3.3.2 Ekstraksi Dengan Metode Maserasi Bertingkat

Serbuk daun kemangi selanjutnya dilakukan ekstraksi jenis maserasi bertingkat yaitu dengan mengekstraksi serbuk daun kemangi sebanyak 2 kali menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10 b/v, yaitu serbuk kemangi 200 gram dan etanol 96% 2 L. Pada maserasi pertama, sampel dicampur dengan 60% volume etanol 96% yaitu 1,2 L yang digunakan selama 3 hari dan diaduk setiap hari menggunakan batang pengaduk kayu. Kemudian disaring dan dimaserasi kembali menggunakan 40% volume etanol 96% yaitu 0,8 L, yang digunakan selama 3 hari dan diaduk setiap hari (Hartono dkk, 2020). Volume ekstrak diukur untuk dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Setelah di peroleh ekstrak kental ditimbang kembali berapa banyak ekstrak kental yang dihasilkan untuk mengetahui persen rendemen ekstrak (Apriliana dkk, 2019).

3.3.3 Uji Kualitatif Senyawa Flavonoid

Untuk melakukan uji skrining fitokimia flavonoid pada ekstrak etanol 96% daun kemangi dapat dilakukan dengan 10 mg ekstrak kental daun kemangi sebanyak, kemudian dilarutkan dalam 5 ml etanol dan beberapa tetes FeCl_3 1% hingga terjadi perubahan warna. Kandungan flavonoid ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi biru, ungu, hijau, merah maupun hitam. Apabila sampai 20 tetes FeCl_3 1% belum terjadi perubahan warna, maka flavonoid negatif (Kumalasari, 2020).

3.3.4 Analisis Kuantitatif dan Penetapan Kadar Flavonoid

1. Pembuatan larutan induk quersetin 50 ppm

Menimbang 5 mg Quersetin, kemudian dilarutkan dengan 5ml etanol 96% dalam beaker glass 100 ml, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 50 ml dan di tambahkan lagi etanol 96% hingga tanda batas (Aminah dkk, 2017).

2. Pengukuran panjang gelombang maksimum quersetin

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 1 ml dari seri konsentrasi Quersetin 2 ppm ditambahkan 1 ml AlCl_3 2 % sebagai pembentuk kompleks yang stabil antara aluminium klorida dengan flavonoid dan 1 ml $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ 0,12 M sebagai pereaksi dan mempertahankan panjang gelombang. Kemudian absorbansinya dibaca pada interval 200-500 nm. Dicatat panjang gelombang maksimumnya (Aminah dkk, 2017).

3. Penetapan kurva baku quersetin

Penetapan kurva baku quersetin dilakukan dengan cara 1 ml dari seri konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm ditambahkan 1 ml AlCl_3 2% dan 1 ml $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ 0,12 M. Absorbansinya dibaca pada panjang gelombang maksimum (Aminah dkk, 2017). Pembacaan pada penelitian ini dilakukan sebanyak 4 kali.

4. Pembuatan dan pengukuran sample

75 mg ekstrak etanol 96% daun kemangi dimasukkan dalam gelas beker 100 ml kemudian dilarutkan dengan 10 ml pelarut etanol 96%. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml ditambahkan etanol 96% hingga tanda batas. sampel kemudian dipipet 1 ml ditambahkan 1 ml AlCl_3 2% dan 1 ml $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ 0,12 M. Absorbansinya dibaca pada panjang gelombang maksimum. Pembacaannya dilakukan sebanyak 4 kali (Aminah dkk, 2017).

3.4 Analisis Hasil

3.4.1 Rendemen Ekstrak Simplisia

Hasil dari rendemen pada proses ekstraksi daun kemangi dengan pelarut etanol 96%, dilakukan perhitungan % Rendemen dengan rumus sebagai berikut (Apriliana dkk, 2019) :

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh (gram)}}{\text{Bobot simplisia sebelum di ekstrak (gram)}} \times 100\%$$

3.4.2 Kadar flavonoid

Absorbansi vs Konsentrasi (ppm) dari Quersetin dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear, sehingga menghasilkan nilai A, B, r agar kurva linear maka nilai r harus mendekati 1, sehingga dapat di hitung persamaan regresi linear, yaitu (Hartono dkk, 2020) :

$$Y = ax + b$$

dengan :

Y= nilai absorbansi sampel

a = slope (kemiringan)

b = intercept (titik potong)

x = konsentrasi

Berdasarkan persamaan di atas, nilai a dan b di peroleh dari kurva baku absorbansi larutan seri quersetin. Kemudian, untuk nilai Y(absorbansi sampel) dapat diperoleh dengan:

Y= Rata-rata absorbansi larutan ekstrak - Rata-rata absorbansi blanko

Sehingga nilai x bisa di ketahui dengan :

$$x = (y-b) : a$$

x (konsentrasi), memiliki satuan $\mu\text{g/mL}$, harus dikonversi terlebih dahulu menjadi mg/mL agar memudahkan dalam menghitung Kadar Flavonoid Total. Berikut rumus untuk menentukan Kadar Flavonoid Total (Sari, 2018) :

$$\text{Kadar Flavonoid Total} = \frac{C \times V}{m} \times \text{FP}$$

Keterangan :

C = Konsentrasi kuersetin ($\mu\text{g/mL}$)

V = Volume sampel (L)

FP = Faktor Pengenceran

m = Berat sampel estrak (gram)

