

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2023 sampai Juli 2023. Waktu pengambilan data dilakukan pada bulan Juni 2023 di Laboratorium Kimia Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Gresik.

3.2 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini yang dilakukan adalah penelitian eksperimental, untuk mengetahui kandungan flavonoid dalam daun belimbing wuluh menggunakan dua pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu etanol 90% dan n-heksana.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan penelitian adalah timbangan analitik (*Centarus Scale*), waterbath (*Thermostat Water Bath HH6*), blender (*Miyako*), batang pengaduk, beaker glass 50 mL, 500 mL (Herma), gelas ukur 250 mL, 500 mL (Herma), gelas kimia 100 mL, labu ukur 50 mL, 250 mL, 500 mL (Herma), kaca arloji, cawan porselen 35 mL (Herma), rak tabung, tabung reaksi (Herma), penjepit kayu, ayakan 45 mesh, spatula, pipet tetes, sendok tanduk, kain flannel, alumunium foil, wadah maserasi.

3.3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan penelitian ini adalah daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang berasal dari daerah Dusun Pasekan, Kelurahan Tasikmadu, Kecamatan Palang, Kabupaten Tuban. Daun belimbing wuluh dipilih segar yang tidak muda dan tua. Bahan – bahan lainnya yang digunakan etanol 90%, n-heksana teknis, aquadest, HCl pekat, serbuk Mg.

3.4 Prosedur

3.4.1 Pembuatan Larutan Etanol 90%

Langkah pertama untuk membuat etanol 90% sebanyak 700 mL dari etanol 96% adalah menyiapkan gelas ukur 250 mL dan 500 mL. Gelas ukur 250 mL digunakan untuk membuat etanol 90% sebanyak 200 mL. Pada gelas ukur tersebut pertama – tama dimasukkan etanol 96% sebanyak 234,3 mL (sesuai perhitungan pada lampiran 2) dan ditambah aquades sampai 200 mL dan untuk gelas ukur 500 mL diisi etanol 96% sebanyak 468,7 mL dan ditambah aquades sampai tanda batas. Hasil pengenceran disimpan pada beaker glass lalu ditutup oleh alumunium foil.

3.4.2 Preparasi Sampel

Daun belimbing wuluh diambil sebanyak 3 kg dan selanjutnya dicuci dengan air mengalir dan ditiriskan. Daun belimbing wuluh tersebut selanjutnya dikeringkan dengan cara dikeringanginkan selama 3 – 5 hari. Daun yang telah dikeringkan kemudian diblender, lalu simplisia yang sudah halus dilakukan pengayakan dengan menggunakan ayakan mesh 45. Setelah diayak serbuk disiapkan sebanyak 140 gr untuk proses ekstraksi.

3.4.3 Proses Ekstraksi (modifikasi metode Ibrahim dkk)

a) Maserasi dengan pelarut etanol 90%

Proses maserasi menggunakan perbandingan bahan dan pelarut sebesar 1:10 simplisia daun belimbing wuluh ditimbang sebanyak 70 gram lalu direndam dengan etanol sebanyak 700 mL. Maserasi dilakukan selama 3 hari, setiap hari dilakukan pengadukan sebanyak 1 kali selama 5 menit. Selanjutnya ditutup dan didiamkan selama tiga hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Pada hari ke-3 dilakukan proses penyaringan menggunakan kain flannel untuk memisahkan ampas dan filtratnya.

b) Maserasi dengan pelarut n-heksana

Proses maserasi menggunakan perbandingan bahan dan pelarut sebesar 1:10 simplisia daun belimbing wuluh ditimbang sebanyak 70 gram lalu direndam dengan n-heksana sebanyak 700 mL. Maserasi dilakukan selama 3

hari, setiap hari dilakukan pengadukan sebanyak 1 kali selama 5 menit. Selanjutnya ditutup dan didiamkan selama tiga hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Pada hari ke-3 dilakukan proses penyaringan menggunakan kain flannel untuk memisahkan ampas dan filtratnya.

c) Uji Flavonoid

1) Uji Wilstater

Ekstrak kental etanol 90% daun belimbing wuluh diambil 1 gram kemudian 1 ml etanol dimasukkan ke dalam tabung reaksi, setelah itu ditambahkan serbuk magnesium dan 2 – 4 tetes HCl pekat, kemudian campuran dikocok. Flavon yang memberi warna merah sampai jingga, merah tua flavonol atau flavonon (Rahayu dkk, 2015). Ambil 1 gram ekstrak kental n-heksana daun belimbing wuluh kemudian 1 ml n-heksana, masukkan dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan serbuk magnesium dan 2 – 4 tetes HCl.

2) Uji Bate-smith

Ambil 1 gram ekstrak kental etanol 90% daun belimbing wuluh kemudian masukkan etanol 1 ml dalam tabung reaksi dan ditambahkan beberapa tetes HCl pekat hingga campuran kemudian dipanaskan dalam penangas selama 15 menit. Adanya warna merah menunjukkan senyawa flavonoid dari golongan antosianidin (Rahayu dkk, 2015). Ambil 1 gram ekstrak kental n-heksana daun belimbing wuluh, masukkan 1 ml n-heksana ke dalam tabung reaksi, lalu tambahkan beberapa tetes HCl pekat. Campuran dipanaskan di atas penagas air selama 15 menit.

3.5 Analisis Data

3.5.1 Skrining Fitokimia

Analisis skrining fitokimia ini didasarkan pada perubahan warna yang terjadi pada ekstrak daun belimbing wuluh untuk menentukan adanya senyawa flavonoid dengan metode ekstraksi yaitu maserasi yang menggunakan pelarut etanol 90% dan n-heksana.

Tabel 3.5 1 Uji Senyawa Flavonoid

Pelarut	Wilstater				Bate-Smith				Hasil
	Blanko	P1	P2	P3	Blanko	P1	P2	P3	
Etanol 90%									
N-Heksana									

Ket:

P1 : Perlakuan 1

P2 : Perlakuan 2

P3 : Perlakuan 3

3.5.2 Hasil Rendemen

Menghitung persentase hasil rendemen daun belimbing wuluh setelah diekstrak etanol dengan menggunakan rumus.

$$\frac{\text{Bobot ekstrak yang didapat}}{\text{Bobot serbuk simplisia yang diekstrak (gram)}} \times 100\%$$

Tabel 3.5 2 Rendemen Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Pelarut	Simplisia awal	Bobot Ekstrak Kental	Bobot Rendemen
Etanol 90%			
N-Heksana			