

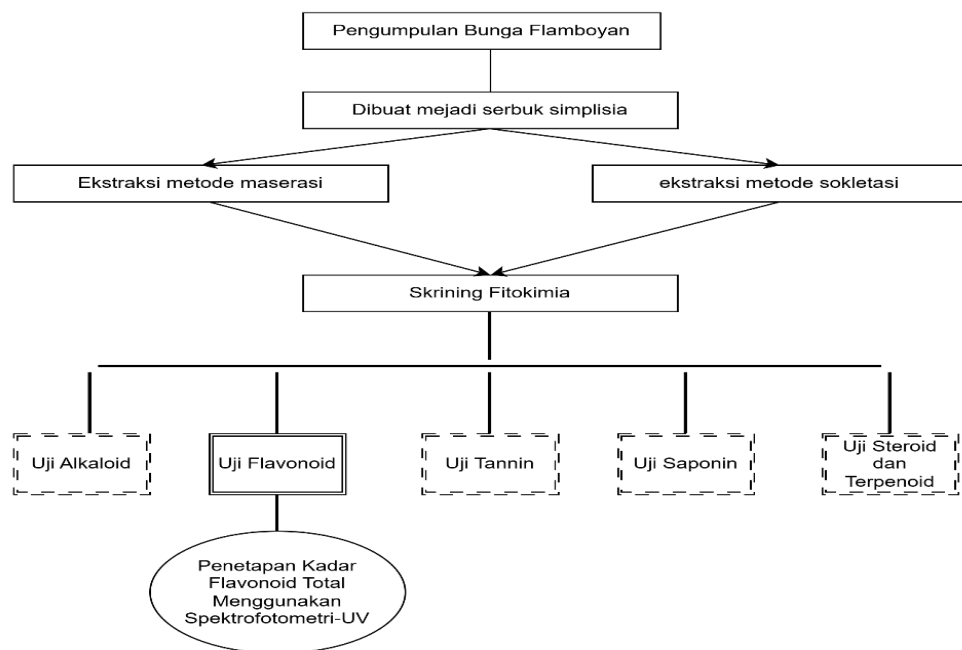
BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimen dengan pendekatan kuantitatif eksplanatif.

B. Desain Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

Keterangan

: Diteliti

: Tidak diteliti

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Bunga flamboyan (*Delonix regia*) yang berasal dari kota Kupang, Nusa Tenggara Timur.

2. Sampel dan teknik sampling

a. Sampel

Sampel yang dipergunakan pada penelitian ini ialah bunga Flamboyan (*Delonix regia*) dimana bunga diambil asal Sikumana, Kelurahan Belo, Kecamatan Maulafa, Nusa Tenggara Timur.

b. Teknik sampling

Teknik sampling di penelitian ini memakai teknik purposive sampling. Kriteria sampel berupa bunga Flamboyan (*Delonix regia*) dengan kelopak berwarna merah cerah serta segar.

D. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam Laboratorium Kimia, Farmasi Bahan Alam dan Instrumentasi di program studi D-III Farmasi, Poltekkes Kemenkes Kupang.

2. Waktu penelitian

Penelitian dilakukan di bulan Maret-Mei 2026.

E. Variabel Penelitian

1. Variable bebas

Variable bebas pada penelitian ini ialah metode ekstraksi maserasi dan sokletasi.

2. Variable terikat

Variable terikat pada penelitian ini ialah kadar flavonoid total dalam ekstrak etanol 95% bunga flamboyan (*Delonix regia*).

F. Defenisi Operasional

1. Ekstrak etanol 95% bunga flamboyan (*Delonix regia*) adalah simplisia bunga flamboyan yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 95% dan digunakan sebagai sampel dalam penelitian, dengan skala ukur nominal.
2. Maserasi merupakan metode ekstraksi dingin yang dilakukan dengan cara merendam simplisia bunga flamboyan dalam pelarut etanol 95% selama tiga hari dan dilanjutkan remaserasi selama dua hari tanpa proses pemanasan, di mana penimbangan bahan dilakukan menggunakan timbangan analitik dan hasilnya dinyatakan dalam skala rasio.
3. Sokletasi adalah metode ekstraksi panas yang dilakukan melalui proses kondensasi dan sirkulasi pelarut secara berulang hingga tetesan siklus menjadi tidak berwarna, dengan penimbangan bahan menggunakan timbangan analitik dan hasil pengukuran dinyatakan dalam skala rasio.
4. Kadar flavonoid total ekstrak etanol 95% bunga flamboyan (*Delonix regia*) merupakan kandungan senyawa flavonoid yang terdapat dalam

ekstrak etanol 95% bunga flamboyan, yang ditentukan melalui uji kualitatif menggunakan metode skrining fitokimia dengan skala nominal serta uji kuantitatif menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis dengan skala rasio.

G. Prosedur Penelitian

1. Alat dan Bahan

a. Alat

Penelitian ini menggunakan alat berupa timbangan analitik, blender, kain flanel, bejana maserasi, alat sokhlet, rotary evaporator, batang pengaduk, cawan penguap, waterbath, tabung reaksi, gelas ukur, labu ukur, pipet ukur, vial, beaker glass, pipet tetes, vortex, sentrifugasi, kuvet, Spektrofotometer UV-Vis.

b. Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan berupa bunga flamboyan (*Delonix regia*), etanol 95%, aquades, serbuk magnesium, HCl, aluminium (III) klorida 10%, Asam Asetat 5%, etanol 70%, serbuk serta kuersetin.

2. Pengambilan Bunga Flamboyan (*Delonix regia*)

Pengumpulan sampel dilakukan secara manual dengan memilih kelopak berwarna merah cerah serta segar dari tanaman flamboyan (*Delonix regia*).

3. Pembuatan Simplisia

Sortasi basah dilakukan terhadap bahan tanaman segar hasil panen, kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih dari debu dan tanah. Setelah itu, bahan dikeringkan hingga kadar air berkurang sesuai standar. Selanjutnya, sortasi kering dilakukan untuk memisahkan simplisia yang cacat atau tidak memenuhi syarat, lalu simplisia disimpan dalam kemasan yang inert, non-toksik, tahan terhadap kontaminasi dan hama, terlindung dari sinar matahari, serta mampu mencegah penguapan zat aktif (Nasri *et al.*, 2023).

4. Penetapan Kadar Air Simplisia Bunga Flamboyan

Penetapan kadar air dilakukan untuk mengetahui kandungan air dalam simplisia bunga flamboyan (*Delonix regia*) setelah periode penyimpanan sebelum proses ekstraksi. Pengujian ini bertujuan untuk memastikan bahwa kadar air simplisia berada dalam batas yang memenuhi persyaratan sehingga tidak memengaruhi kestabilan senyawa aktif.

Penetapan kadar air serbuk bunga flamboyan dilakukan menggunakan metode *moisture balance*. Sebanyak 2 gram serbuk simplisia ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam alat *moisture balance*. Pengukuran kadar air dilakukan pada suhu 105°C hingga alat memberikan indikator bunyi sebagai tanda bahwa proses pengeringan telah selesai, atau selama ± 15 menit. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan untuk meningkatkan keakuratan hasil.

5. Pembuatan Ekstrak Etanol 95% Bunga Flamboyan (*Delonix regia*)

Metode Maserasi

Sebanyak 200 g sampel bunga flamboyan (*Delonix regia*) dimasukkan ke dalam wadah kaca berwarna gelap yang dibungkus aluminium foil, kemudian diekstraksi menggunakan 1,5 L etanol 95%. Wadah ditutup rapat dan proses ekstraksi dilakukan selama 3×24 jam. Setelah itu, larutan ekstrak disaring menggunakan kain flanel. Ampas hasil penyaringan selanjutnya diremaserasi dengan etanol sebanyak 0,5 L selama 2×24 jam. Seluruh filtrat yang diperoleh kemudian digabungkan dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 60°C. Sisa pelarut selanjutnya diuapkan menggunakan *water bath* hingga diperoleh ekstrak kental (Pujiastuti & El'Zeba, 2021).

6. Pembuatan Ekstrak Etanol 95% Bunga Flamboyan (*Delonix regia*)

Metode Sokletasi

Sebanyak 40 gram sampel bunga flamboyan (*Delonix regia*) dibungkus menggunakan kertas saring, kemudian diikat pada kedua ujungnya dengan benang dan dimasukkan ke dalam alat soklet. Sebanyak 400 mL pelarut etanol 95% dimasukkan ke dalam labu soklet. Proses sokletasi dilakukan pada suhu pemanasan 80-85 °C hingga tetesan siklus menjadi tidak berwarna. Ekstrak cair yang diperoleh selanjutnya dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 60°C. Sisa pelarut kemudian diuapkan menggunakan *water bath* hingga diperoleh ekstrak kental (Rosita *et al.*, 2019).

7. Skrining Fitokimia Uji Flavonoid

Uji Flavonoid dilakukan menggunakan Uji Shinoda. Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan air panas kemudian ditambahkan 0,2 g serbuk magnesium dan 3 tetes HCl. Kehadiran senyawa flavonoid ditandai dengan munculnya perubahan warna (Kurnianto *et al.*, 2021).

8. Penetapan Kadar Flavonoid Total Menggunakan Spektrofotometri-UV

a. Pembuatan larutan baku standar kuersetin

Larutan standar kuersetin dengan konsentrasi 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang sebanyak 25 mg kuersetin, lalu dilarutkan dalam etanol 70% di dalam labu ukur 25 mL hingga mencapai tanda batas (Suharyanto & Hayati, 2021).

b. Pembuatan seri kurva kuersetin

Disiapkan larutan standar dalam deret konsentrasi 40, 60, 80, 100, 120, dan 140 ppm. Sebanyak 1 mL dari setiap konsentrasi larutan standar tersebut dimasukkan ke dalam vial, kemudian ditambahkan 1 mL larutan AlCl_3 10% dan 8 mL larutan asam asetat 5%. Campuran tersebut didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Selanjutnya, absorbansi setiap larutan diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Ramadhani *et al.*, 2020).

c. Penentuann Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 1 mL larutan stok kuersetin 120 ppm dicampurkan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Campuran tersebut kemudian dianalisis menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dalam rentang panjang gelombang 410–430 nm (Anna & Pyrzynska, 2014).

d. Pembuatan larutan blanko

Sebanyak 1 mL larutan aluminium klorida (AlCl_3) 10% diambil dan dicampurkan dengan 8 mL larutan asam asetat 5%. Selanjutnya, etanol 70% ditambahkan hingga volume total mencapai 10 mL. Setelah itu, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum menggunakan Spektrofotometer UV-Vis (Purnama, 2023).

e. Penetapan kadar flavonoid

Masing-masing ekstrak ditimbang sebanyak 75 mg, kemudian dilarutkan dalam etanol dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL. Selanjutnya, ditambahkan etanol 70% hingga mencapai tanda batas sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 3 000 ppm. Dari larutan stok tersebut diambil sebanyak 1 mL, kemudian ditambahkan 1 mL larutan AlCl_3 10% dan 8 mL larutan asam asetat 5%. Campuran diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Setelah itu, absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum

menggunakan Spektrofotometer. Pengujian dilakukan dengan tiga kali pengulangan (Ramadhani *Sp.*, 2020).

f. Analisis Data

Hasil ekstraksi yang diperoleh dari dua metode, yaitu maserasi dan sokletasi, dihitung persentase rendemennya. Nilai persentase hasil ekstraksi dari masing-masing metode kemudian disajikan dalam bentuk narasi dan tabel. Selanjutnya dilakukan uji kualitatif untuk mengidentifikasi keberadaan metabolit sekunder berupa flavonoid. Analisis kadar total flavonoid secara kuantitatif dilakukan menggunakan Spektrofotometer UV, dengan perhitungan berdasarkan kurva kalibrasi dan persamaan regresi linier sesuai dengan hukum Lambert-Beer sebagai dasar perhitungannya (Afandi & Purwanto, 2018).

$$y = bx + a$$

Keterangan :

y : absorbansi ekstrak etanol 95% bunga flamboyan (*Delonix regia*)

x : konsentrasi total flavonoid (ppm)

b : slope (kemiringan)

a : intersep

$$Kadar\ Flavonoid\ Total = \frac{V \times C \times Fp}{m} \times 100\%$$

Keterangan :

Fp : Faktor Pengenceran

M : Berat ekstrak (g)

V : Volume (L)

C : Konsentrasi ekstrak (mg/L)