

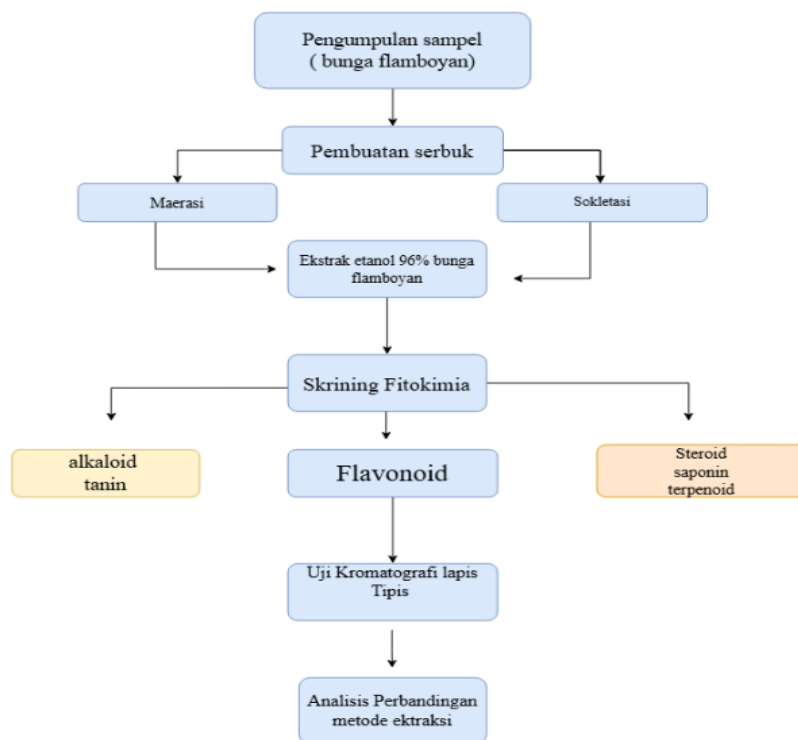
## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Jenis penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen.

#### B. Desain Penelitian



**Gambar 3. Alur Penelitian**

#### C. Tempat dan waktu penelitian

##### 1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia, Laboratorium Farmakognosi, dan Laboratorium Instrumen Prodi Farmasi Poltekkes Kemenkes Kupang

##### 2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April 2026

## **D. Populasi dan Sampel**

### **1. Populasi**

Populasi tanaman bunga flamboyan (*Delonix regia*) yang berasal dari Jalan Sukun 1 Kuankobo, Kelurahan Sikumana, Kecamatan Maulafa Kota Kupang.

### **2. Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga flamboyan yang dibuat menjadi ekstraksi dengan etanol 95%

## **E. Variabel Penelitian**

### **1. Variabel Bebas**

Variabel bebas dari penelitian ini adalah metode ekstraksi yang digunakan pada bunga flamboyan (*Delonix regia*) yaitu metode maserasi (cara dingin) dan metode sokletasi (cara panas) dengan etanol 95% sebagai pelarut.

### **2. Variabel Terikat**

Variabel terikat dari penelitian ini adalah presentasi rendemen dari ekstrak kental bunga flamboyan serta profil KLT yang berupa nilai  $R_f$ , jumlah noda, dan karakteristik warna bercak yang dihasilkan dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm serta sesudah pemberian pereaksi  $AlCl_3$  5%

### **3. Variabel Pengganggu**

Variabel pengganggu dari penelitian ini adalah etanol 95%, suhu pemekatan ekstrak 60°C dan ukuran ayakan 60 mesh.

## F. Definisi Operasional

1. Bunga flamboyan adalah bunga yang diambil dari Jalan Sukun 1 Kuankobo, Kelurahan Sikumana, Kecamatan Maulafa Kota Kupang, dengan kriteria bunganya berwarna merah segar yang digunakan untuk penelitian.
2. Kemudian dilakukan proses pembuatan simplisia,
3. Teknik dalam penyarian senyawa aktif dari bunga ini dilakukan dengan dua metode ekstraksi yakni metode maserasi (cara dingin) dan metode sokletasi (cara panas). Variabel ini diukur sesuai dengan jenis perlakuan yang diberikan pada sampel.
4. Presentase antara bobot ekstrak kental yang dihasilkan dengan bobot awal dari simplisia kering bunga flamboyan. Hasil pengukuran tersebut dinyatakan dalam satu persen (%).
5. Gambaran dari pemisahan komponen kimia flavonoid berdasarkan pada tingkat kepolarannya menggunakan fase diam Silika Gel GF254 dan fase gerak etil asetat: metanol: asam asetat: aquades (4:3:2:1). Profil ini dinilai secara kualitatif karena dapat dilihat berdasarkan jumlah noda dan karakteristik dari warna yang tampak dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm setelah dilakukan penyemprotan dengan menggunakan pereaksi  $AlCl_3$  5%.
6. Nilai  $R_f$  adalah parameter kuantitatif yang merepresentasikan perbandingan antara jarak tempuh dari noda senyawa dengan jarak tempuh fase gerak pada lempeng KLT. Kemudian parameter ini dapat diukur secara manual dengan penggaris dan dinyatakan dalam bentuk desimal.

$$\text{Nilai } R_f = \frac{\text{Jarak noda bercak (cm)}}{\text{Jarak tempuh pelarut (cm)}}$$

## **G. Alat dan Bahan**

### **1. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmayer, gelas ukur, cawan porselin, tabung reaksi, pipet tetes, sendok tanduk, gelas kimia, batang pengaduk, bejana maserasi, labu takar, benang, kertas saring, timbangan analitik (Type EW-220-3NM), rotary evaporator (Eyela type N-1000), hotplate, waterbath (Memmert), ayakan no 60 mesh, penggaris dan pensil, pipa kapiler, chamber, mikropipet, spray klt, lampu UV 254 nm dan 366 nm, lempeng klt silika gel GF254.

### **2. Bahan**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga flamboyan, etanol 95%, aquades, pereaksi  $\text{AlCl}_3$  5%, etil asetat, metanol, asam asetat glasial, aquades, larutan HCL 2 N, serbuk Mg.

## **H. Prosedur Penelitian**

### **1. Pengambilan Bahan**

Bunga flamboyan diambil dari jalan sukun 1 kuankobo, Kelurahan Sikumana, Kecamatan Maulafa Kota Kupang.

### **2. Pembuatan Serbuk Simplisia**

- 1.) Bunga flamboyan yang telah diambil dikumpulkan terlebih dahulu lalu disortir untuk memisahkan kotoran, tanah, dan bagian bunga yang rusak, busuk ataupun terkontaminasi.
- 2.) Bunga kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Proses pencucian dilakukan secara hati-hati agar tidak merusak jaringan bunga.

- 3.) Bunga dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Pengeringan dilakukan hingga sampel mencapai kadar air rendah yang ditandai dengan tekstur bunga yang lemas saat diremas.
- 4.) Sortasi kering dilakukan untuk memisahkan bahan yang berjamur, berubah warna, atau bahkan tidak kering sempurna. Simplisia kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan menggunakan ayakan no 60 mesh.

### **3. Maserasi Serbuk Simplisia**

- 1.) Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 200gram lalu masukan dalam bejana.
- 2.) Sampel kemudian dibasahi dengan 1 liter cairan penyari etanol.
- 3.) Larutan maserat disimpan selama 15-30 menit.
- 4.) Bejana maserasi ditutup rapat dan disimpan pada tempat yang terhindar dari sinar matahari langsung selama 5 hari diambil sesekali diaduk.
- 5.) Setelah 5 hari, campuran diserkai dan diambil filtratnya.
- 6.) Ampasnya diremaserasi menggunakan 500 mL cairan penyari etanol.
- 7.) Hasil ekstrak cair disimpan dalam bejana tertutup serta dibiarkan di tempat yang sejuk dan terlindung dari cahaya selama 2 hari.
- 8.) Ekstrak diuapkan dengan alat rotary evaporator pada suhu 60°C sampai didapatkan ekstrak yang kental
- 9.) Ekstrak dipekatkan lagi menggunakan waterbath sehingga didapatkan ekstrak yang kental (Amin, 2023).

Persen rendemen dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot total ekstrak}}{\text{bobot total simplisia}} \times 100\%$$

#### 4. Sokletasi serbuk simplisia

- 1.) Simplisia ditimbang sebanyak 40 gram, kemudian dibungkus dengan kertas saring dan diikat dengan benang.
- 2.) Bungkusan simplisia tersebut diletakan di dalam tabung soklet (*thimble*).
- 3.) Pelarut etanol 95% dengan volume total 400 mL
- 4.) Ekstraksi dilangsung pada suhu 70°C selama 45 siklus hingga tetesan siklus menjadi jernih.

Persen rendemen dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat akhir ekstrak (g)}}{\text{Bobot awal simplisia (g)}} \times 100\%$$

#### 5. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Bunga Flamboyan

- 1.) Identifikasi Flavonoid
  - a. Sebanyak 0,2gram ditimbang
  - b. Kemudian ekstrak dilarutkan dalam 5mL air panas
  - c. Tambahkan serbuk magnesium dan 5 tetes HCL pekat
  - d. Amati perubahan warna yang terjadi.
  - e. Munculnya perubahan warna menunjukan hasil positif, yang berarti sampel mengandung flavonoid (Cahyaningsih *et al.*, 2019).
- 2.) Identifikasi Alkaloid
  - a. Ekstrak ditimbang sebanyak 0,5gram dimasukan dalam tabung reaksi
  - b. Etanol sebanyak 2 ditambahkan kemudian diaduk.
  - c. Selanjutnya 5 mL HCl 2N ditambahkan dan larutan dipanaskan

dengan menggunakan penangas air.

- d. Setelah dingin kemudian larutan disaring. Filtrat yang dihasilkan lalu ditetesi dengan 2-3 tetes reagen mayer.
- e. Sampel diamati hingga terbentuk keruh atau endapan, yang menunjukkan sampel positif mengandung alkaloid (Cahyaningsih *et al.*, 2019).

### 3.) Identifikasi Saponin

- a. Ekstrak ditimbang sebanyak 0,1 gram kemudian dilarutkan dalam 15 mL air panas.
- b. Larutan selanjutnya dipanaskan selama 5 menit.
- c. Penyarian dilakukan, lalu 10 mL filtrat yang sudah dihasilkan, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan kocok larutan tersebut hingga berbentuk busa atau buih.
- d. Sebanyak 1 tetes HCl 2N ditambahkan. Hasil dianggap mengandung saponin apabila busa atau buih yang terbentuk tetap stabil selama  $\pm 10$  menit (Cahyaningsih *et al.*, 2019).

### 4.) Identifikasi Tanin

- a. Ekstrak sebanyak 0,4 gram dilarutkan dalam 8 mL air.
- b. Diambil 2 mL larutan dan ditetes dengan larutan  $\text{FeCl}_3$  10%.
- c. Hasil positif ditandai dengan munculnya warna biru gelap atau hitam kehijauan pada larutan (Cahyaningsih *et al.*, 2019)

### 5.) Identifikasi Fenolik

- a. Ekstrak sebanyak 0,1 gram ditimbang kemudian dicampur dengan 20

mL larutan  $\text{FeCl}_3$ .

- b. Hasil positif mengandung fenolik jika terjadi perubahan warna menjadi hitam kebiruan atau bahkan hitam pekat.

## 6. Uji Kromatografi Lapis Tipis

- a. Plat silika gel GF254 dipanaskan dalam oven dengan suhu  $105^\circ\text{C}$  selama 30 menit agar menghilangkan kelembaban (aktivasi).
- b. Plat kemudian diberi garis awal  $\pm 2$  cm dari tepi bawah dan garis batas eluen  $\pm 1,5$  cm dari tepi atas, digaris menggunakan pensil, tujuannya karena grafit pada pensil bersifat stabil secara kimia dan tidak beraksi dengan pelarut.
- c. Fase gerak (eluen) dibuat dengan mencampurkan etil asetat: metanol:asam asetat: aquades (4:3:2:1). Total volume eluen yang digunakan adalah sebanyak 10 mL, sehingga volume masing-masing komponen yang diukur adalah etil asetat 4 mL, metanol 3 mL, asam asetat glasial 2 mL, dan aquades 1 mL. Seluruh komponen dicampurkan di dalam gelas ukur dan diaduk hingga homogen.
- d. Chamber diisi dengan eluen , kemudian dimasukan kertas saring agar didalamnya. Tujuannya adalah agar memperluas penguapan eluen berlangsung lebih cepat dan merata. Setelah itu, chamber ditutup rata dan didiamkan selama 10-15 menit hingga ruang chamber jenuh .
- e. Ekstrak hasil maserasi dan sokhletasi yang telah diencerkan ditimbang menggunakan pipa kapiler dengan jarak 1,5 cm dari tepi bawah. Diameter totolan harus dijaga sekecil mungkin agar lebih optimal dan



penotolan dilakukan berulang sebanyak 1-2 kali pada titik yang sama. Penotolan yang terlalu besar atau terlalu banyak maka akan menyebabkan noda melebar (talling), saling bertumpuk dan bahkan dapat menyebabkan dua senyawa dua senyawa terlihat sebagai satu noda dan nilai  $R_f$  kurang akurat. Sehingga pastikan penotolan dijaga sekecil mungkin, kemudian plat dikeringkan selama beberapa saat.

- f. Setelah kering, plat dimasukkan tegak lurus ke dalam chamber yang telah dijenuhkan lalu ditutup. Plat dibiarkan hingga fase gerak bergerak mencapai batas.
- g. Selanjutnya, plat klt dikeluarkan dari chamber dan dikeringkan pada suhu ruang.
- h. Kemudian diamati noda pada lampu UV 254 nm nm lalu ditandai,
- i. Dan disemprotkan dengan pereaksi  $AlCl_3$  5%, dikeringkan lalu diamati dibawah sinar UV 366 agar mempertegas identifikasi senyawa flavonoid (Rusmawijayanto *et al.*, 2019).

## I. Teknik Analisis Data

### 1. Persen Rendemen Metode Maserasi

Untuk mengetahui % rendemen yang dihasilkan dengan menggunakan metode maserasi, maka perhitungannya sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot total ekstrak}}{\text{bobot total simplisia}} \times 100\%$$

### 2. Persen Rendemen Metode Sokletasi

Untuk mengetahui % rendemen yang dihasilkan dengan menggunakan metode sokletasi, maka perhitungannya sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot total ekstrak}}{\text{Bobot total simplisia}} \times 100\%$$

### 3. Analisis Profil Kromatografi Lapis Tipis

Profil KLT dianalisis secara kualitatif dengan melihat jumlah noda, warna, dan intensitas bercak yang muncul dibawah sinar UV 245 nm dan 366 nm serta setelah menyemprotkan pereaksi  $\text{AlCl}_3$  5%. Hasil pengamatan tersebut digunakan untuk membandingkan profil flavonoid antara metode maserasi dan sokletasi.

### 4. Perhitungan Nilai Retensi Faktor (Rf)

Analisis hasil dalam penentuan kromatografi lapis tipis menggunakan nilai Rf (Retardation Factor), dan nilai Rf yang dapat diterima adalah nilai  $R_f < 1$ .

Nilai Rf dihitung dengan rumus:

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{Jarak noda bercak(cm)}}{\text{Jarak tempuh pelarut(cm)}}$$

Nilai Rf yang telah diperoleh kemudian dibandingkan antara ekstrak dengan metode maserasi dan sokletasi. Nilai Rf yang sama mengindikasikan bahwa adanya kesamaan karakteristik kepolaran senyawa flavonoid tersebut, sedangkan jika terdapat variasi dari nilai Rf tersebut mengindikasikan bahwa adanya perbedaan dalam karakteritik senyawa yang teridentifikasi.

### 5. Analisis Perbandingan Metode Ekstraksi

Perbandingan teknik maserasi dan sokletasi dilakukan dengan mempertimbangkan nilai Rf, jumlah noda, serta intensitas warna bercak pada kromatogram KLT untuk mengetahui dampak metode ekstraksi terhadap profil flavonoid pada ekstrak bunga flamboyen.