

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian deskriptif kuantitatif.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Bahan Alam, Laboratorium Farmasetika, dan Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi Program Studi D-III Farmasi Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang.

2. Waktu penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan April-Juni tahun 2026.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh daun tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) yang tumbuh di Desa Baumata, Kabupaten Kupang, Provinsi Nusa Tenggara Timur.

2. Sampel dan teknik sampling

a. Sampel

Sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini daun sirsak (*Annona muricata* L.) dimana daun tersebut diambil Desa Baumata, Kabupaten Kupang, Nusa Tenggara Timur.

b. Teknik Sampling

Teknik *sampling* yang digunakan dalam penelitian ini adalah purposive sampling, dengan kriteria daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang hijau dan segar.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan metode Spektrofotometri UV-Vis dengan konsentrasi (30 ppm,45 ppm, 60 ppm,75 ppm, 90 ppm).

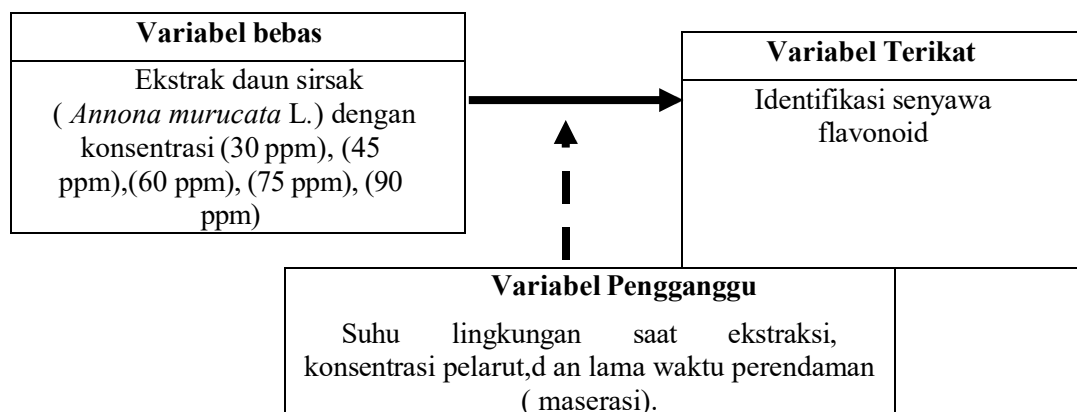
2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah Identifikasi senyawa flavonoid.

3. Variabel pengganggu

Variabel pengganggu dalam penelitian ini adalah metode ekstrak, pelarut, suhu ekstraksi, dan asal dari tanaman daun sirsak (*Annona muricata* L).

E. Kerangka Konsep



Keterangan :

———— : Yang diteliti
 - - - - : Tidak diteliti

Gambar 3. Kerangka konsep

F. Defenisi Operasional

Tabel 1. Defenisi Operasional

No	Indikator Utama	Definisi Operasional	Alat Ukur	Skala
1	Daun sirsak (<i>Annona muricata</i> L)	Bagian tanaman <i>Annona muricata</i> L. yang digunakan sebagai sampel penelitian, diperoleh dari lokasi tertentu, dan dikeringkan hingga menjadi simplisia.		Nominal
2	Ekstrak daun sirsak (<i>Annona muricata</i> L)	Ekstrak kental yang diperoleh dari proses ekstraksi simplisia daun sirsak menggunakan pelarut Etanol 70		Nominal
3	Senyawa Flavonoid dari ekstrak daun sirsak (<i>Annona muricata</i> L)	Golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak yang dapat memberikan reaksi warna spesifik dengan reagen tertentu dan memiliki karakteristik nilai Rf tertentu pada Spektrofotometer UV-Vis.	Spektrofotometer UV-Vis	Rasio
4	Identifikasi	Proses penentuan ada atau tidaknya senyawa flavonoid dalam ekstrak daun sirsak (<i>Annona muricata</i> L), baik secara kualitatif maupun kuantitatif		Rasio
5.	Spektrofotometri UV-Vis	Spektrofotometri UV-Vis adalah metode analisis yang digunakan untuk mengukur absorbansi ekstrak daun sirsak pada rentang panjang gelombang ultraviolet (436) guna mengidentifikasi keberadaan senyawa flavonoid.		

G. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu berupa blender, beaker glass (pyrex iwaki), gelas ukur (pyrex iwaki), timbangan digital, batang pengaduk, obyek glass, sudip, cawan porselin, pipet volume, labu ukur, kaca arloji, sendok tanduk, toples kaca, evaporator rotary, waterbath, ayakan no mesh 45, mortir dan stamper, Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu UV-2600).

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun sirsak Hijau Ketuaan segar (*Annona muricata* L), Etanol 70%, etil-asetat, HCL pekat, serbuk magnesium, FeCl_3 , NaOH 10%.

H. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan simplisia

Proses pembuatan simplisia diawali dengan mengumpulkan daun sirsak (*Annona muricata* L.) sebanyak 4kg kemudian dicuci dan jemur dibawah sinar matahari dan ditutup menggunakan kain hitam selama 4-6 jam, Selanjutnya lakukan sortasi kering untuk memisahkan bagian yang rusak atau tidak dipakai. Setelah itu diblender dan diayak serbuk simplisia menggunakan ayakan dengan nomor mesh 45 lalu ditimbang.

2. Ekstraksi sampel daun sirsak (*Annona muricata* L.)

Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan cara menimbang 300 etanol 70%. Proses maserasi dilakukan selama 3×24 jam dan setiap 1×24 jam dilakukan pengadukan. Setelah proses maserasi selesai, saring dan

pisahkan filtrat maserasi dari residu. Lakukan remaserasi dengan menambahkan 0,5 L etanol 70%. Proses remaserasi dilakukan selama 2×24 jam, setiap 1 × 24 jam lakukan pengadukan. Setelah proses remaserasi selesai, saring dan pisahkan filtrat remaserasi dari residu.

Filtrat hasil maserasi dan remaserasi digabungkan lalu diuapkan di rotary evaporator pada suhu 50°C hingga filtrat sedikit kental. Penguapan dilanjutkan dengan bantuan waterbath hingga diperoleh ekstrak kental.

Perhitungan rendemen :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak (gram)}}{\text{Bobot simplisa (gram)}} \times 100\%$$

3. Skrining fitokimia

a. Uji alkaloid

Timbang sebanyak 0,5 g ekstrak ditambahkan 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL air, dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat dipindahkan 3 tetes ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan larutan pereaksi Dragendrof pada tabung reaksi dan akan terbentuk endapan jingga (F. Dan *et al.*, 2022).

b. Uji tannin

Sebanyak 3 ml larutan ekstrak uji dibagi kedalam tabung lalu direaksikan dengan larutan besi (III) klorida 10% warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin (F. Dan *et al.*, 2022).

c. Uji saponin

Sebanyak 10 mL larutan ekstrak uji dalam tabung reaksi dikocok vertikal selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1-10 cm yang stabil selama tidak kurang 18 dari 10 menit,

menunjukkan adanya saponin. Pada penambahan 1 tetes HCl 2 N, busa tidak hilang (F. Dan *et al.*, 2022)

d. Uji flavonoid

Ekstrak sebanyak 2 mL dipanaskan, kemudian ditambahkan etanol. Ke dalam larutan ditambahkan serbuk magnesium dan ditambahkan HCl. Terbentuk larutan berwarna merah menunjukkan adanya flavonoid (F. Dan *et al.*, 2022)

4. Cara kerja dengan spektrofotometri UV-Vis

a. Pembuatan Larutan Standar Kuarsetin

Kuarsetin sebagai standar ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur hingga volume 100 mL sehingga diperoleh larutan stok.

b. Pembuatan Larutan Standar Seri

Larutan stok selanjutnya diencerkan untuk memperoleh beberapa variasi konsentrasi, yaitu 30 ppm; 45 ppm; 60 ppm; 75 ppm; dan 90 ppm dengan menggunakan etanol sebagai pelarut.

c. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks})

Sebanyak 0,5 mL larutan standar diambil, kemudian ditambahkan 1,5 mL etanol, 0,1 mL larutan aluminium klorida (AlCl_3) 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, serta 2,8 mL aquadest. Campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dalam kondisi terlindung dari cahaya. Setelah itu, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum sekitar 436 nm.

d. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Nilai absorbansi dari masing-masing larutan standar diplot terhadap konsentrasinya untuk menghasilkan kurva kalibrasi. Dari kurva tersebut diperoleh persamaan regresi linear yang digunakan dalam perhitungan kadar flavonoid.

e. Pengukuran Larutan Blanko

Larutan blanko dibuat dengan mencampurkan seluruh pereaksi yang digunakan tanpa penambahan kuarsetin. Larutan kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum sebanyak tiga kali.

f. Penetapan Kadar Flavonoid Total pada Sampel

Sebanyak 0,5 mL larutan ekstrak daun sirsak direaksikan dengan 1,5 mL etanol, 0,1 mL AlCl_3 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, dan 2,8 mL aquadest. Campuran diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dalam kondisi terlindung dari cahaya, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali untuk meningkatkan keakuratan data.

g. Perhitungan Kadar Flavonoid Total

Kadar flavonoid total dalam sampel dihitung berdasarkan persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva kalibrasi kuarsetin. Hasil perhitungan dinyatakan dalam satuan miligram ekuivalen kuarsetin per gram ekstrak (mg QE/g ekstrak).

h. Larutan uji untuk Simplisia

Timbang seksama lebih kurang 0,2 g ekstrak masukan ke dalam labu Erlemeyer ,tambahkan 25 ml etanol p,aduk selama 30 menit dengan pengaduk magnetik .Saring ke dalam labu tentukur 25ml,tambahkan etanol p melalui penyaring sampai tanda batas. Buat seri pengencer larutan pembanding dengan kadar. Prosedur pipet secra terpisah 0,5 ml Larutan uji dan masing-masing seri Larutan pembanding ke dalam wadah yang sesuai,tambahkan pada masing-masing 1,5ml etanol P, 0,1 aluminium klorida P 10% , 0,1 ml natrium asetat 1M dan 2,8 ml Aquadest. Kocok dan diamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum. Lakukan pengukuran blangko dengan cara yang sama, tanpa penambahan aluminun klorida.

I. Analisis Data

Data hasil identifikasi flavonoid pada ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L) dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel atau grafik untuk memperoleh gambaran mengenai kandungan senyawa flavonoid.