

## **BAB III**

### **METODELOGI PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Desain penelitian eksperimental dengan analisis secara deskriptif. Biji carica yang telah menjadi serbuk lalu di ekstraksi menggunakan metode maserasi dan metode refluks. Rendemen dihitung Kadar Air, Kadar Sari Larut Air, Kadar Sari Larut Etanol dan kandungan senyawa metabolit sekunder.

#### **B. Lokasi dan Waktu Penelitian**

##### **1. Lokasi Penelitian**

- a. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia dan Laboratorium Fitokimia Universitas Ngudi Waluyo Ungaran, Semarang.
- b. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistemik Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang.

##### **2. Waktu Penelitian**

Waktu Penelitian dilakukan pada bulan Juni- Agustus 2021.

#### **C. Variabel Penelitian**

##### **1. Variabel bebas**

Variabel bebas ialah variabel yang mempengaruhi sebab perubahan timbulnya variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu metode ekstraksi biji Carica (*Carica pubescens* Lenne et Koch.) menggunakan metode maserasi dan metode refluks.

## 2. Variabel tergantung

Variabel tergantung ialah variabel akibat adanya variabel bebas. Variabel tergantung dalam penelitian ini ialah rendemen, kadar air, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol dan kandungan senyawa alkaloid dan flavonoid ekstrak biji *Carica (Carica pubescens Lenne et Koch.)*.

## 3. Variabel terkontrol

Variabel terkontrol penelitian yaitu pembuatan ekstrak kental. Peralatan yang akan digunakan dilingkungan dan laboratorium.

### **D. Alat dan Bahan**

#### 1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas Pyrex Erlenmeyer (Pyrex), botol kaca transparan (Pyrex), blender (philips), kondensor (pyrex), rotary evaporator, neraca digital (GRAM), kertas saring, ayakan mesh no 60 (sieve).

#### 2. Bahan

Bahan yang digunakan antara serbuk biji carica diambil dari desa Dieng, etanol 95% (Deklinol), pereaksi bouchardat (laboratorium kimia), pereaksi dragendorf (laboratorium kimia), pereaksi mayer (laboratorium kimia), asam klorida 2 N (laboratorium kimia), asam klorida pekat (laboratorium kimia), amil alkohol besi (III klorida 1% serbuk magnesium) asam sulfat pekat (laboratorium kimia), dan asam asetat anhidrat (laboratorium kimia), Zat aquadest kloroform (laboratorium kimia).

## **E. Prosedur Penelitian**

### **1. Pembuatan serbuk simplisia**

Biji Carica 2,5 kg dicuci dengan air lalu lakukan sortasi bahan, dilakukan perajangan biji carica lalu dijemur di bawah terik matahari tidak langsung. Hal ini berguna agar tidak terjadi kerusakan senyawa kimia yang terkandung dalam biji carica (*Carica pubescens Lenne et Koch.*). Setelah kering, dilakukan seleksi kering guna memisahkan biji yang tidak layak pakai. Biji carica dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk halus kemudian diayak dengan ayakan No. 30 mesh dan disimpan dalam wadah bersih tertutup rapat (Anonim, 2010)

### **2. Metode maserasi**

Serbuk biji carica ditimbang sebanyak 100 gram dan dimaserasi di dalam wadah kaca kemudian tambahkan pelarut etanol 95% sebanyak 700 mL hingga seluruh serbuk terendam. Simplisia di rendam kemudian diaduk secara berkala lalu diamkan selama 1×24 jam pada suhu kamar dan gelap yang terhindar langsung dari cahaya kemudian disaring menggunakan corong buchner. Kemudian dilakukan proses remaserasi atau penambahan ulang pelarut terhadap simplisia biji carica sebanyak 300 ml etanol 95%, kemudian serbuk simplisia disaring menggunakan corong Buchner lalu diuapkan diatas penangas air hingga diperoleh ekstrak kental (Acher, 1996).

### **3. Metode Refluks**

Serbuk biji carica ditimbang sebanyak 100 gram, dimasukkan ke dalam labu alas bulat kemudian ditambahkan pelarut etanol 95% sebanyak 700 mL dipanaskan pada suhu 60°C selama 3 jam kemudian disaring menggunakan corong buchner. Kemudian dilakukan proses pengulangan ekstraksi kembali sebanyak 300 ml etanol 95%. Ekstrak disaring dan diuapkan diatas penangas air hingga diperoleh bobot ekstraknya (Anonim, 1986).

Hasil rendemen ekstrak biji Carica dapat dihitung dengan rumus berikut :

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

#### 4. Penetapan kadar air

Ditimbang ekstrak biji carica (*Carica Pubescens Lenne et Koch.*) 2 gram lalu masukkan ke dalam cawan poselin yang telah ditimbang. Ekstrak dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit lalu dikeringkan dengan suhu penetapan hingga diperoleh berat konstan. Dinginkan ekstrak dalam deksikator kemudian catat berat konstan yang diperoleh dengan perhitungan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar air} = \frac{b - (c - a)}{b} \times 100\%$$

Keterangan :

a = Berat cawan (g)

b = Berat sampel (g)

c = Berat cawan + sampel (g) (DepKes RI 1989)

#### 5. Penetapan Kadar Sari Larut Air

Ditimbang ekstrak 1 gram, masukkan ke dalam labu ukur 25 ml, kemudian tambahkan air jenuh – kloroform.

Air jenuh-kloroform dihasilkan dengan mencampurkan 2,5 ml kloroform kemudian ditambahkan 100 ml aquadest. Kocok selama 6 jam. Filtrat yang dihasilkan lalu disaring dan diuapkan dengan cawan porselin diatas penangas air dengan suhu 105<sup>o</sup>C sampai dihasilkan residu. Hitung persen (%) kadar sari larut air (Depkes RI., 2008). menggunakan rumus :

$$\text{Kadar air} = \frac{\mathbf{b - (c - a)}}{\mathbf{b}} \times \mathbf{100\%}$$

Keterangan :

a = Berat cawan (g)

b = Berat sampel (g)

c = Berat cawan + sampel (g) (DepKes RI 1989)

#### 6. Penetapan Kadar Sari Larut Etanol

Ekstrak biji carica (*Carica pubescens* Lenne et Koch.) ditimbang sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml ditambahkan etanol 95 % sebanyak 20 ml. Kocok selama 6 jam dan diamkan selama 8 jam. Filtrat yang dihasilkan disaring kemudian diuapkan diatas penangas air hingga diperoleh residu yang diinginkan dengan suhu 105<sup>o</sup>C. Hitung kadar dalam persen (%) sari larut etanol (Depkes RI., 2008). Nilai kadar sari larut etanol dihitung dengan rumus :

$$\text{adar air} = \frac{b - (c - a)}{b} \times 100\%$$

Keterangan :

a = Berat cawan (g)

b = Berat sampel (g)

c = Berat cawan + sampel (g) (DepKes RI 1989)

## 7. Uji Kandungan Kimia

Prosedur pertama yang dilakukan adalah pembuatan larutan uji untuk skrining fitokimia dengan melarutkan 500 mg ekstrak biji carica (*Carica pubescens* *Lenne et Koch.*) dengan 50 ml pelarut etanol 95%.

### a. Uji Alkaloid

Larutan uji 2 ml diuapkan diatas cawan porselin sampai didapatkan residu. Hasil residu yang didapatkan dilarutkan dengan HCl 2N sebanyak 5 mL. Kemudian larutan tersebut disaring. Larutan diperoleh dibagi ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung pertama sebagai control. Tabung ke 2 ditetesi 3 tetes pereaksi dragendrof. Adanya endapan berwarna jingga pada tabung menandakan positif alkaloid . Tabung ke 3 ditambahkan 3 tetes preaksi mayer (melalui dinding tabung). Adanya endapan berwarna kuning pada tabung menunjukkan adanya kandungan senyawa alkaloid. (Farnworth 1996 dalam Putri dkk., 2015).

### b. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 ml larutan uji dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung 1 sebagai kontrol tabung ke 2 ditambahkan dengan 1

mL larutan Pb Asetat (timbang Asetat) 5% Jika terdapat endapan kuning maka positif flavonoid (Raphael 2012). Tabung 3 ditambahkan 3 tetes NaOH 10% jika terbentuknya warna kuning positif mengandung senyawa flavonoid (Ugochukwu dkk., 2013).

#### **F. Analisis Data**

Dalam penelitian ini dilakukan melalui perhitungan rendemen ekstrak biji carica (*Carica pubescens* Lenne et Koch.). Proses ekstraksi dilakukan dengan cara mengekstraksi serbuk biji carica dengan menggunakan metode ekstraksi yang berbeda yaitu metode maserasi dan metode refluks. Kedua metode ini merupakan penyarian zat aktif yang sering dilakukan dalam pembuatan ekstrak. Perbedaan metode ekstraksi bertujuan untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi terhadap rendemen ekstrak yang dihasilkan dan metode yang efektif menarik senyawa kimia yang terdapat dalam sampel. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi biji carica (*Carica pubescens* Lenne et Koch.) yaitu etanol 95%. Etanol 95% memiliki kemampuan menyari dengan polaritas luas mulai dari senyawa nonpolar sampai dengan senyawa polar (Saifudin dkk 2011).

Hasil dari proses maserasi kemudian disaring menggunakan corong buchner lalu diuapkan diatas penangas air hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstraksi dilakukan sebanyak tiga kali. Hasil dari proses refluks kemudian disaring kembali menggunakan corong Buchner, lalu diuapkan diatas penangas air sampai diperoleh bobot ekstrak.