

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua obyek atau subyek yang menjadi sasaran dalam penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun songgolangit (*Tridax procumbens*) yang terdapat di Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam melakukan suatu penelitian. Sampel yang digunakan adalah daun songgolangit (*Tridax procumbens*) segar, berwarna hijau, dan dipetik saat sedang berbunga yang diambil dari Kecamatan Jaten, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah kadar fenol total pada ekstrak n-heksan, etil asetat, dan etanol daun songgolangit (*Tridax procumbens*).

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel bebas penelitian ini adalah ekstrak dengan pelarut n-heksan, etil asetat, etanol. Variabel tergantung penelitian ini adalah kadar fenol total pada daun songgolangit (*Tridax procumbens*).

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Pertama, daun songgolangit adalah daun yang berasal dari tanaman songgolangit (*Tridax procumbens*) dipetik dari daun yang berwarna hijau yang diperoleh dari Kecamatan Jaten, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, ekstrak daun songgolangit adalah hasil dari ekstraksi serbuk daun songgolangit yang diekstraksi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, etanol 70% dengan metode refluks.

Ketiga, ekstrak n-heksan adalah ekstrak kental daun songgolangit yang diperoleh melalui ekstraksi menggunakan pelarut n-heksan yaitu pelarut nonpolar dengan metode refluks bertingkat.

Keempat, ekstrak etil asetat adalah ekstrak kental daun songgolangit yang diperoleh melalui ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat yaitu pelarut semipolar dengan metode refluks bertingkat.

Kelima, ekstrak etanol adalah ekstrak kental daun songgolangit yang diperoleh melalui ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% yaitu pelarut polar dengan metode refluks bertingkat.

Keenam, kadar fenol total adalah kadar senyawa fenol total yang terkandung dalam daun songgolangit (*Tridax procumbens*) dilakukan dengan cara metode Folin-Ciocalteu menggunakan asam galat sebagai standar pembandingan.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk simplisia daun songgolangit, etanol 70%, Aquadest, n-heksan, etil asetat, FeCl₃, Asam galat, reagen Folin-Ciocalteu, NaOH, dan methanol p.

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, ayakan mesh 60, tabung rekasi, oven, kurs, kain flanel, kertas saring, kuvet, labu tentukur 10 mL, labu tentukur 100 mL, kuvet, sendok ekstrak, gelas beaker, pipet tetes, beaker glass, spektrofotometer UV-Vis, kuvet, mikropipet, blender, corong, seperangkat alat refluks.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Tanaman songgolangit dilakukan determinasi di UPT Laboratorium Universitas Setia Budi untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan benar-benar tanaman songgolangit yang dimaksud, dan juga untuk mencegah kesalahan saat pengambilan dan pengumpulan sampel bahan penelitian.

2. Pengambilan & Pengumpulan Sampel

Daun songgolangit yang digunakan adalah daun yang masih segar dan berwarna hijau yang dikumpulkan dari Kecamatan Jaten, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Sampel daun songgolangit yang telah dikumpulkan dilakukan penyortiran dari pengotor padat atau bagian-bagian yang tidak diperlukan sebelum proses pengeringan simplisia. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan daun yang layak dan bagus kegiatannya dilakukan secara manual.

3. Pembuatan Serbuk

Daun songgolangit (*Tridax procumbens*) dicuci dengan air yang mengalir untuk menghilangkan tanah atau benda asing yang menempel,

lalu dilakukan proses penirisan. Setelah ditiriskan, daun songgolangit dikeringkan dengan oven sampai kering pada suhu 50°C. Ciri-ciri simplisia kering ketika diremas dengan tangan berbunyi kres. Daun songgolangit yang sudah dikeringkan disortasi kering dahulu untuk memisahkan pengotor yang terdapat pada sampel kering. Kemudian, songgolangit diblender untuk menghasilkan serbuk daun songgolangit. Serbuk daun songgolangit yang dihasilkan diayak menggunakan ayakan ukuran 60 mesh. Hasil penyerbukan disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat.

4. Penetapan Susut Pengerinan

Susut pengerinan dilakukan dengan menimbang 2g serbuk daun songgolangit, selanjutnya dimasukkan ke dalam botol timbang dangkal tertutup yang sebelumnya sudah dipanaskan pada suhu 105°C dan ditimbang. Sebelum ditimbang, serbuk diratakan dalam botol timbang hingga membentuk lapisan setebal 5-10 mm, keringkan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Dinginkan dalam eksikator hingga suhu botol sama dengan suhu ruang (Kemenkes, 2017).

5. Pembuatan Ekstrak

Daun songgolangit diekstraksi secara bertingkat dengan metode refluks. Sebanyak 30gram serbuk daun songgolangit, dimasukkan dalam labu alas bulat 250 mL, ditambahkan 150 mL n-heksan, direfluks selama 1 jam, didiamkan lalu disaring saringan pertama menggunakan kain flanel kemudian dengan kertas saring. Residu direfluks kembali dengan 150 mL etil asetat selama 1 jam, didiamkan lalu disaring saringan pertama menggunakan kain flanel kemudian dengan kertas saring. Residu direfluks kembali dengan 150 mL etanol 70%, didiamkan lalu disaring saringan pertama menggunakan kain flanel kemudian dengan kertas saring. Hasil dari filtrat n-heksan, etil asetat, dan etanol 70% diuapkan dengan oven pada suhu 50°C, hingga diperoleh ekstrak kental daun songgolangit.

6. Identifikasi Senyawa Fenol

Ekstrak daun songgolangit dilarutkan dengan etanol. Selanjutnya filtrat dimasukan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan FeCl_3 sebanyak 3 tetes. Hasil positif fenol ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi hijau kehitaman, biru atau merah (Widiawati & Qodri, 2023).

7. Penetapan Kadar Fenol Total

7.1 Pembuatan Larutan Induk Asam galat. Ditimbang sebanyak 10 mg asam galat, lalu dilarutkan dengan metanol pada labu takar 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm. Diencerkan larutan induk asam galat 1000 ppm menjadi 100 ppm dalam 50 mL kedalam labu tentukur 50mL ditambahkan methanol pa sampai tanda batas. Dibuat konsentrasi 30, 40, 50, 60, dan 70 ppm dengan cara dipipet larutan induk asam galat 100 ppm sebanyak 3, 4, 5, 6, dan 7 mL hingga tanda batas dan dihomogenkan (Kemenkes, 2017).

7.2 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum. Memipet 0,5 mL dari seri konsentrasi 40 ppm ditambahkan 2,5 mL pereaksi Folin Ciocalteu, didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 2 mL NaOH 1%. Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 – 800 nm (Kemenkes, 2017).

7.3 Penetapan Operating Time. Memipet 0,5 mL dari seri konsentrasi 40 ppm ditambahkan 2,5 mL pereaksi Folin Ciocalteu, didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 2 mL NaOH 1%. Pengukuran dilakukan selama 60 menit pada panjang gelombang maksimum 736 nm (Kemenkes, 2017).

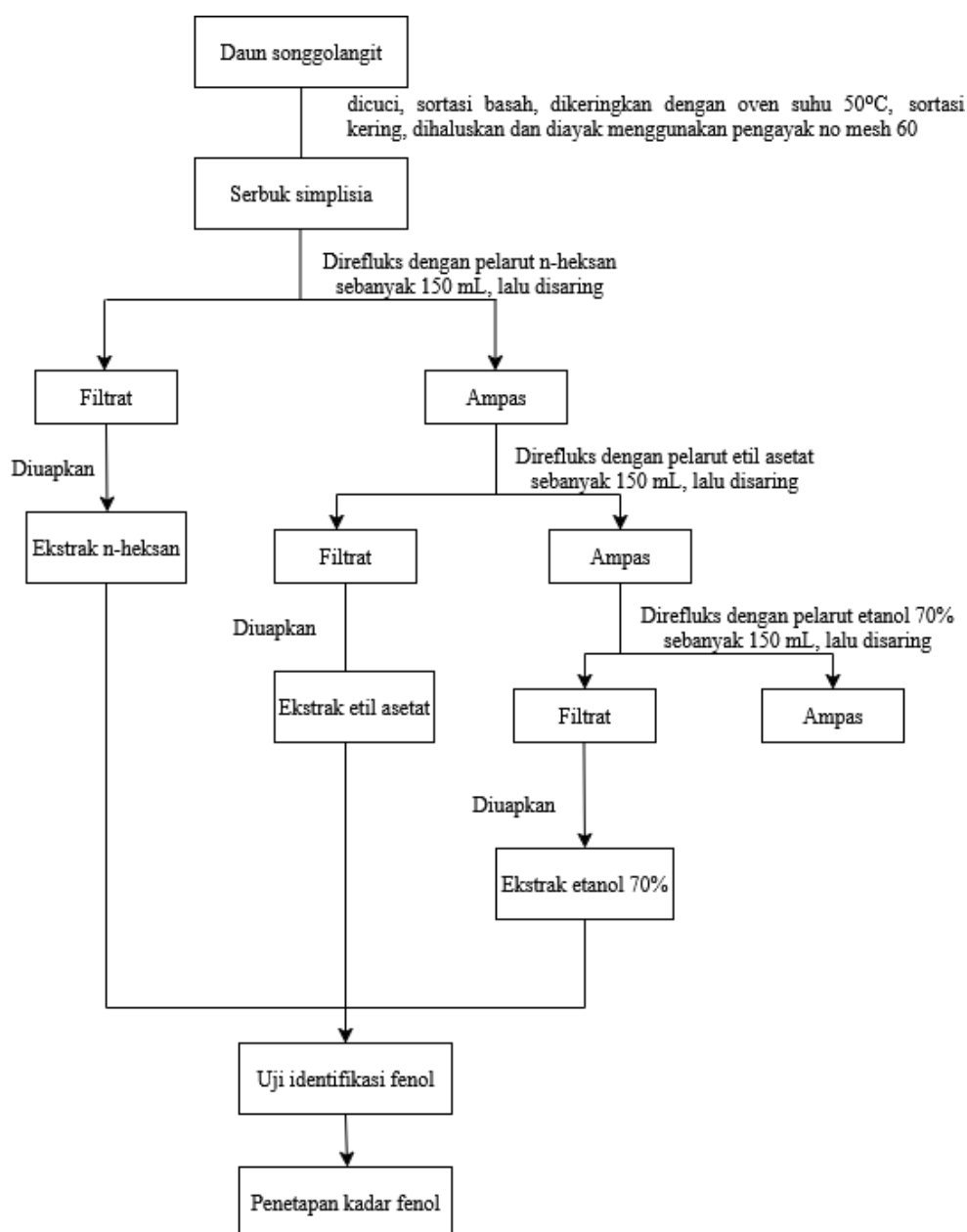
7.4 Penetapan Kurva Asam Galat. Sebanyak 0,5 mL dari masing-masing seri konsentrasi asam galat 70, 60, 50, 40, dan 30 ppm, ditambahkan 2,5 mL pereaksi Folin Ciocalteu, didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 2 mL NaOH 1 % diinkubasi selama operating time. Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 736 nm (Kemenkes, 2017).

7.5 Penetapan Kadar Fenol Total Ekstrak. Ekstrak etanol 70%, etil asetat, dan n-heksan sebanyak 25 mg dilarutkan dengan methanol pa. Kemudian ekstrak yang telah larut disaring ke dalam labu tentukur 10 mL ditambahkan methanol pa sampai tanda batas. Memipet 0,5 mL dari larutan uji masing-masing ekstrak n-heksan, etil asetat, dan etanol 70% ditambahkan 2,5 mL pereaksi Folin Ciocalteu, didiamkan selama 8 menit, ditambahkan 2 mL NaOH 1 % inkubasi selama operating time. Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 736 nm (Kemenkes, 2017). Pengujian dilakukan dengan 3 kali pengulangan.

E. Analisis Hasil

Analisis hasil kadar fenol total dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier yang diperoleh dari kurva baku asam galat, regresi linier $y = bx + a$ dibuat berdasarkan data absorbansi dan konsentrasi dari larutan standar.

F. Skema Jalannya Penelitian



Gambar 4. Skema jalannya penelitian