

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **1.1 Jenis Penelitian**

Penelitian ini yaitu penelitian kuantitatif dengan metode pendekatan eksperimental laboratorium untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak daun bunga telang (*Clitoria ternatea L.*).

#### **3.2 Bahan dan Alat yang digunakan**

##### **3.2.1 Bahan**

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Ekstrak daun bunga telang (*Clitoria ternatea L.*), klorofom, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, aquades, HCl 2M, dan FeCl<sub>3</sub>. Bahan uji toksisitas dengan metode BSLT antara lain larva udang *Artemia salina*.

##### **3.2.2 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: pisau, neraca analitik, gelas ukur, Erlenmeyer, corong, kertas saring, beaker glass, spatula, pengaduk kaca, botol vial.

#### **3.3 Variable Penelitian**

##### **3.2.1 Variabel Independen**

Variabel independen atau variable bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun bunga telang (*Clitoria ternatea L.*).

##### **3.2.2 Variabel dependen**

Variabel Dependen atau variable terikat dalam penelitian ini adalah organoleptik, skrining fitokimia, dan uji toksisitas daun bunga telang menggunakan metode BSLT.

### 3.2.3 Analisa Data

Pengumpulan data dilakukan dengan mengamati berapa banyak hewan uji yang mati karena ketoksikan suatu senyawa selama 24 jam.

$$\% \text{ Larva} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah Larva uji}} \times 100\%$$

Kemudian menentukan nilai  $LC_{50}$  melalui analisis probit menggunakan spss untuk melihat perbedaan rata-rata dari dua atau lebih kelompok perlakuan.

## 3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

### 3.3.1 Persiapan Sampel

Tumbuhan daun bunga telang dilakukan determinasi terlebih dahulu untuk memastikan dari tanaman yang akan dipakai. Determinasi dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan (LIPI) di Bogor, Jawa Barat. Daun bunga telang dikeringkan untuk mengurangi kadar air yang terkandung di dalamnya. Sampel yang telah dihaluskan dan disimpan dalam wadah tertutup rapat.

### 3.3.2 Ekstraksi Sampel

Pembuatan ekstrak daun bunga telang dilakukan dengan metode maserasi bertingkat, yaitu 1 kg sampel kemudian diekstraksi menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan methanol. Masukkan simplisia kedalam botol coklat kemudian tambahkan pelarut n-heksana dan diamkan selama 24 jam sesekali dilakukan pengadukan, kemudian dilakukan remaserasi selama empat hari.

Setelah itu, disaring kedalam wadah baru sehingga diperoleh filtrat dan residu. Selanjutnya, residu Kembali di ekstraksikan dengan pelarut etil asetat dan methanol dengan cara yang sama. Hasil penyarian dari ekstrak diuapkan menggunakan evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental.

### 3.3.3 Skrining Fitokimia

Dilakukan uji skrining fitokimia sebagai berikut:

#### a. Uji Alkaloid

Ambil ekstrak 0,5 gram tambahkan HCl 1% kemudian disaring. Filtrat dibagi menjadi tiga bagian dan dilakukan pengujian menggunakan beberapa tetes pereaksi mayer, wagner dan dragendorf. Reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya endapan putih kekuningan dengan peraksi mayer. Terbentuk endapan coklat kemerahan dengan penambahan pereaksi wagner. Terbentuk endapan jingga pada penambahan pereaksi Dragendorf menunjukkan positif mengandung alkaloida (Sopianti, 2018).

#### b. Uji Tanin

Ambil ekstrak 0,5 gram masukan dalam tabung reaksi tambahkan 2 ml etanol 70% kemudian diaduk, tambahkan FeCl<sub>3</sub> sebanyak 3 tetes. Terbentuknya warna biru karakteristik, biru-hitam, hijau atau biru-hijau dan endapan menunjukkan adanya tannin. (Sopianti, 2018).

#### c. Uji Flavonoid

Ambil ekstrak 0,5 gram masukan tabung reaksi, lalu ditambahkan denganserbuk Mg dan larutan HCl pekat. Perubahan warna larutan menjadi merahbata menandakan adanya flavanoid (Sopianti, 2018).

#### d. Uji Saponin

Ambil ekstrak 0,5 gram masukkan dalam tabung reaksi tambahkan 2 ml etanol 70% kemudian diaduk. Dan tambahkan 20ml aquadest dan dikocok kuat kemudian amati selama 15-20 menit. Jika terbentuk busa menunjukkan adanya saponin (Sopianti, 2018).

#### e. Uji Steroid

Ambil ekstrak 0,5 gram masukan dalam tabung reaksi tambahkan 2 ml etanol 70% kemudian diaduk, ditambahkan 2 ml kloroform, ditambahkan 2 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dengan cara diteteskan pelan-pelan dari sisi dinding tabung reaksi. Pembentukan cincin warna merah menunjukkan adanya steroid (Sopianti, 2018).

#### **f. Uji Triterpenoid**

Ambil ekstrak 0,5 gram masukkan dalam tabung reaksi ditambahkan 1 ml  $\text{CH}_3\text{COOH}$  glasial dan 1 ml larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat. Jika warna berubah menjadi merah menunjukkan adanya kelompok senyawa terpenoid (Sopianti, 2018).

#### **3.3.4 Uji Toksisitas**

Uji toksisitas Pengujian sampel dilakukan dengan memasukkan sampel ke dalam botol vial, kemudian sampel dihomogenkan menggunakan vortex selama 1 menit, selanjutnya 10 ekor larva udang *Artemia salina* berumur 48 jam dimasukkan ke dalam botol vial.

Setelah 24 jam perlakuan, larva udang *Artemia salina* diamati menggunakan lup. Pengamatan kematian larva dilihat dari pergerakan larva selama beberapa detik dan larva yang mati akan mengendap di dasar botol vial. (Tampungan dkk, 2011).

