

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Bahan dan Alat

3.1.1. Bahan

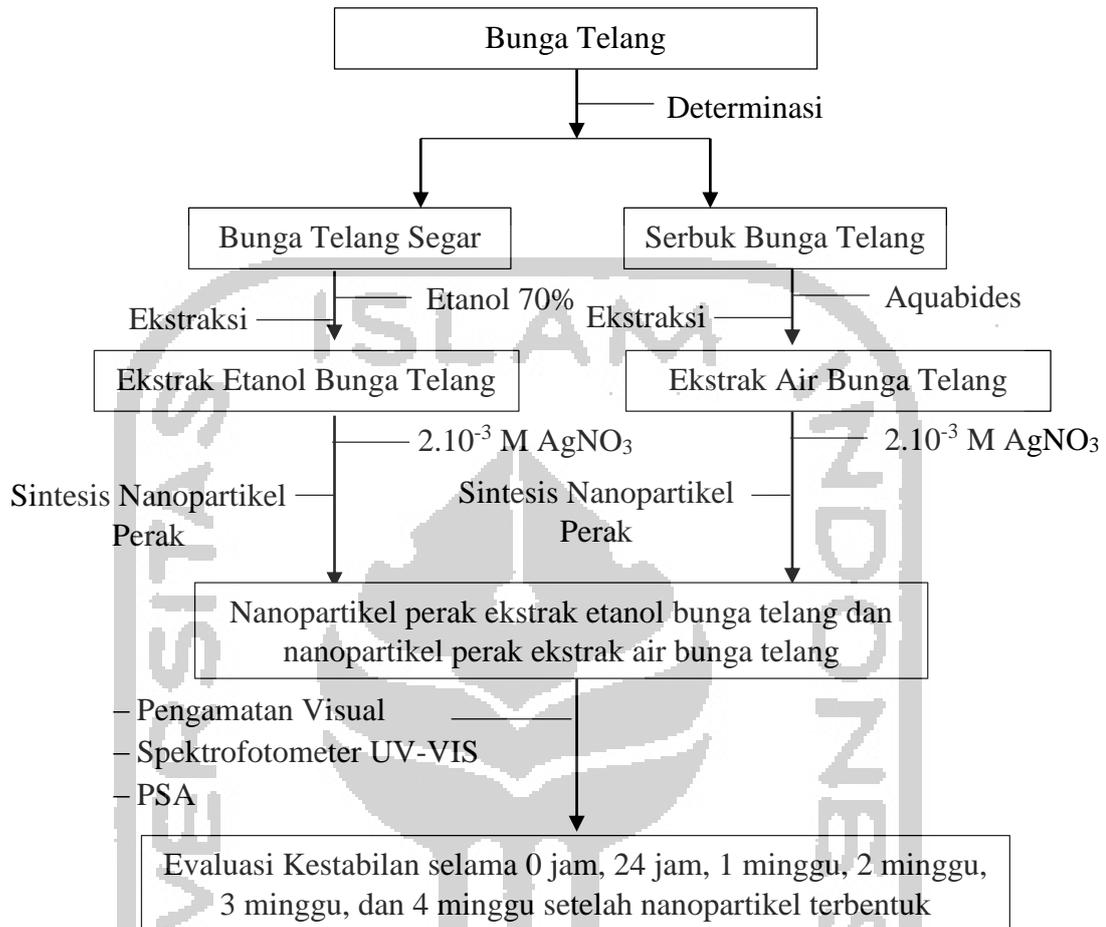
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) yang dibudidayakan oleh salah satu warga Tamanmartani, Kalasan, Sleman, *aluminium foil*, aquades, aquabides, etanol 70 %, kertas saring *whatman* No.1, *water for injection*, AgNO_3 (Perak Nitrat), etanol 95%, asam klorida 4 N, asam klorida 1 N, *membrane filter*, *Blue tip* (Thermo), *yellow tip* (Thermo), *syringe filter* 0,45 (Pall), *vial* dan *plastic wrap*.

3.1.2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas (Pyrex), rak tabung, *heater* (Heidolph), timbangan analitik (*Mettler Toledo*), Spektrofotometer UV-Vis (Hittachi), *Particle Size Analyzer* (*Horiba Scientific SZ-100*), *ultrasonic homogenizer* (*Biologic. Inc 300 V/T*), mikropipet (*Transferpette*), panci, thermometer, *pH meter* (*Mettler Toledo FE20-Kit FiveEasyTM*).

3.2. Skema Penelitian

Skema penelitian berikut berisi urutan penelitian dimulai dari memperoleh tanaman bunga telang (*Clitoria ternatea* L.), determinasi bunga telang, pembuatan ekstrak etanol bunga telang dan ekstrak air bunga telang, identifikasi kualitatif dan kuantitatif senyawa flavonoid ekstrak etanol bunga telang dan ekstrak air bunga telang, pembuatan AgNO_3 10^{-3} M dan AgNO_3 $2 \cdot 10^{-3}$ M, pembuatan nanopartikel perak ekstrak etanol bunga telang dan nanopartikel perak ekstrak air bunga telang, dilakukan pengamatan visual, panjang gelombang dan absorbansi, Kemudian dilakukan evaluasi stabilitas pada 0 jam, 24 jam, 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu setelah nanopartikel perak terbentuk dengan pengamatan visual, spektrofotometer UV-Vis, dan *particle size analyzer* (PSA).



Gambar 3.1. Skema Penelitian

3.3. Cara Penelitian

3.3.1. Persiapan Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Persiapan tanaman bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan pengumpulan bunga telang yang berasal dari Tamanmartani, Kalasan, Sleman. Pengumpulan bunga dilakukan pada pagi hari saat matahari terbit. kemudian dipilih bagian bunga yang kemudian dilakukan determinasi. Bunga telang yang telah dikumpulkan selanjutnya dideterminasi di Laboratorium Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada (UGM).

3.3.2. Pembuatan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) 2,85%

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) yang telah didapatkan dicuci menggunakan Aquabides. Setelah dilakukan pencucian, bunga telang ditimbang sebanyak 5 gram

diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 100 mL. Proses ekstraksi menggunakan metode modifikasi infundasi, yaitu dengan dilakukan pemanasan tidak langsung namun dijaga suhu agar tidak lebih dari 58 °C (Harvima, 2019). Setelah itu disaring menggunakan kertas saring *whatman* No. 1 kemudian didapatkan ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.), dimasukkan ke dalam vial.

3.3.3. Pembuatan Ekstrak Air Bunga Telang 5,8%

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dikumpulkan setelah itu dicuci hingga bersih menggunakan air suling. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode infundasi, 5,8 g bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dipanaskan dengan pemanasan tidak langsung dengan 100 ml aquades selama 15 menit pada suhu 90 °C (Wulandari, 2019). Selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring *whatman* No. 1, diambil filtratnya.

3.3.4. Identifikasi Kualitatif Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Bunga Telang dan Ekstrak Air Bunga Telang

Identifikasi kualitatif senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan uji tabung. Ekstrak etanol bunga telang dan ekstrak air bunga telang direaksikan dengan serbuk logam Mg kemudian ditetaskan dengan HCl pekat dan dilihat perubahan warna. Ekstrak etanol bunga telang dan ekstrak air bunga telang direaksikan dengan FeCl₃ kemudian dilihat perubahan warna (Ergina *et al.*, 2014; Vimalkumar *et al.*, 2014).

3.3.5. Identifikasi Kuantitatif Senyawa Antosianin Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Pada pengujian kuantitatif kandungan antosianin dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi UII. Pertama dilakukan penimbangan dengan seksama 0,3 gram ekstrak kental, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 mL, ditambahkan 24 mL campuran etanol 95% dan asam klorida 4 N, digojog lalu diuji pH hingga pH 1 dengan menambahkan asam klorida 4 N, digojog selama 15 menit. Kemudian disaring menggunakan penyaring membran dengan porositas 0,45 µm. Filtrat dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, ditambahkan dengan campuran etanol 95%

dan asam klorida 1 N (85:15) sampai tanda batas, setelah itu larutan dipindahkan ke dalam kuvet, campuran etanol 95% dan asam klorida 1 N (85:15) sebagai blanko, dibaca serapan pada panjang gelombang serapan maksimum 535 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Larutan blanko yang digunakan menggunakan campuran etanol P-asam klorida 1 N (85:15). Kadar antosianin dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Depkes RI, 2008):

$$C = \left(\frac{A}{\varepsilon}\right) \times \left(\frac{V}{1000}\right) \times \frac{BM}{w} \times 10^6$$

3.3.6. Pembuatan AgNO₃ 10⁻³ M dan 2.10⁻³ M

Pembuatan AgNO₃ 10⁻³ M dengan menimbang 0,008 gram perak nitrat (AgNO₃), kemudian ditambahkan 50 ml *water for injection* (WFI). Setelah itu dimasukkan dalam botol gelap. AgNO₃ 10⁻³ M yang telah didapatkan disimpan dalam suhu ruang. Pembuatan AgNO₃ 2.10⁻³ M dengan menimbang 0,016 gram perak nitrat (AgNO₃), kemudian ditambahkan 50 ml *water for injection* (WFI). Setelah itu dimasukkan dalam botol gelap. AgNO₃ 2.10⁻³ M yang telah didapatkan disimpan dalam suhu ruang.

3.3.7. Pembuatan nanopartikel perak ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.)

Preparasi formulasi dilakukan dengan menyiapkan *vial*. Ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) sebanyak 50 µL dimasukkan ke dalam *vial* kemudian ditambahkan AgNO₃ 10⁻³ M sebanyak 1000 µL ke dalam mikrotube yang telah dilapisi *aluminium foil* agar terlindung dari cahaya, kemudian dilakukan sonikasi menggunakan alat *ultrasonic homogenizer* (Biologic. Inc) dengan pulser sonikator 30 selama 3 menit (Harvima, 2019).

3.3.8. Pembuatan nanopartikel perak ekstrak air bunga telang (*Clitoria ternatea*)

Preparasi formulasi dilakukan dengan menyiapkan *vial*. Ekstrak air bunga telang (*Clitoria ternatea*) sebanyak 90 µL dimasukkan ke dalam *vial* kemudian ditambahkan AgNO₃ 2.10⁻³ M sebanyak 1000 µL ke dalam mikrotube yang telah dilapisi *aluminium foil* agar terlindung dari cahaya, kemudian dilakukan sonikasi

menggunakan alat *ultrasonic homogenizer (Biologic. Inc)* dengan pulser 30 selama 4 menit (Wulandari, 2019).

3.3.9. Karakteristik Nanopartikel Perak Ekstrak Etanol Bunga Telang dan Nanopartikel Perak Ekstrak Air Bunga Telang

3.3.9.1. Pengamatan Visualisasi

Pengamatan visualisasi dilakukan pada nanopartikel perak ekstrak etanol bunga telang dan nanopartikel perak ekstrak air bunga telang. Pada nanopartikel perak ekstrak etanol bunga telang diamati perubahan warna pada jam ke-0, jam ke-15, jam ke-18, jam ke-21, dan jam ke-24. Pada nanopartikel perak ekstrak air bunga telang diamati perubahan warna pada jam ke-0, jam ke-12, jam ke-24, jam ke-36, dan jam ke-48. Perbedaan waktu pengamatan dikarenakan perbedaan waktu pembentukan nanopartikel perak ekstrak etanol bunga telang dan nanopartikel perak ekstrak air bunga telang.

3.3.9.2. Pengamatan Panjang Gelombang Serapan UV-Vis

Pembentukan nanopartikel perak dapat dilihat dari panjang gelombang menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang antara 350 nm – 550 nm. Pengamatan panjang gelombang nanopartikel perak ekstrak etanol dilakukan pada jam ke-0, jam ke-15, jam ke-18, jam ke-21, dan jam ke-24. Pengamatan panjang gelombang nanopartikel perak ekstrak air bunga telang dapat diamati pada jam ke-0, jam ke-12, jam ke-24, jam ke-36, dan jam ke-48. Perbedaan waktu pengamatan dikarenakan perbedaan waktu pembentukan nanopartikel perak ekstrak etanol bunga telang dan nanopartikel perak ekstrak air bunga telang.

3.3.10. Uji Kestabilan Nanopartikel Perak Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) dan Nanopartikel Perak Ekstrak Air Bunga Telang (*Clitoria ternatea*)

Pengujian kestabilan dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan PSA pada 0 jam, 24 jam, 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu setelah nanopartikel perak terbentuk. Kemudian dibandingkan hasil visualisasi, panjang gelombang, dan ukuran partikel dari nanopartikel perak ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea*) dengan nanopartikel perak ekstrak air bunga telang (*Clitoria ternatea*).

3.4. Analisis Data

Membandingkan data karakteristik nanopartikel perak ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan nanopartikel perak ekstrak air bunga telang (*Clitoria ternatea* L.). Pengamatan stabilitas nanopartikel perak meliputi perubahan warna, panjang gelombang, absorbansi, ukuran partikel, polidispers index dan zeta potensial kemudian dibandingkan dengan jurnal. Data stabilitas yang dihasilkan kemudian dianalisis menggunakan %CV dengan rumus:

$$\%CV = \frac{SD}{Rata - rata} \times 100$$

