

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan bersifat deskriptif eksploratif. Penelitian deskriptif eksploratif adalah suatu penelitian yang menggambarkan keadaan suatu fenomena. Dalam penelitian ini tidak dimaksudkan untuk menguji hipotesis tertentu hanya menggambarkan apa adanya suatu variabel, gejala atau keadaan.

Penelitian ini dilakukan dengan menguji ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) yang dihasilkan dan dilakukan skrining fitokimia yang meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, minyak atsiri, steroid dan triterpenoid untuk melihat hasil perbedaan metabolit sekunder.

B. Subjek Penelitian

Subjek pada penelitian ini yaitu metabolit sekunder yang dihasilkan pada daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan perbedaan dua ekstraksi (Maserasi dan Sokletasi) menggunakan dua kali pengulangan proses ekstraksi.

C. Sampel Penelitian

Sampel penelitian merupakan objek yang diteliti dan dianggap mewakili seluruh populasi penelitian (Notoatmodjo, 2018: 115). Sampel pada penelitian ini adalah daun sirih merah (*Piper crocatum*) yang bersih dan sehat (tidak ada jamur pada daun). Daun yang dipetik berwarna merah hati pada bagian belakang daun dan pada bagian depan daun berwarna hijau tua.

D. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Januari-April tahun 2022, untuk pengambilan sampel akan diambil di Kecamatan Menggala, Kabupaten Tulang Bawang dan untuk pengujian akan dilaksanakan di Laboratorium Farmakognosi Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Tanjungkarang.

E. Pengumpulan Data

Pada penelitian ini peneliti memerlukan alat dan bahan serta prosedur kerja penelitian. Alat dan bahan serta prosedur kerja pada penelitian ini yaitu sebagai berikut :

1. Alat dan Bahan

a. Alat

- | | |
|--|---------------------------|
| 1) Blender | 10) Spatula |
| 2) Ayakan 40 <i>mesh</i> | 11) Batang pengaduk |
| 3) Neraca analitik | 12) Sudip |
| 4) Erlenmeyer 50 ml, 100 ml dan 250 ml | 13) Toples maserasi |
| 5) <i>Beaker glass</i> 100 ml dan 250 ml | 14) Alat sokhletasi |
| 6) Pipet tetes | 15) Kompor listrik |
| 7) Rak tabung reaksi | 16) Nampan alumunium |
| 8) Spatula | 17) Tabung reaksi |
| 9) <i>Rotary evaporator</i> RE 100-Pro | 18) Corong <i>glass</i> |
| | 19) Wadah hasil ekstraksi |

2. Bahan

- | | |
|------------------------|--|
| 1) Daun sirih merah | 10) Amil alkohol |
| 2) Etanol 96% | 11) FeCl ₃ 5% |
| 3) Pereaksi Mayer | 12) H ₂ SO ₄ (P) |
| 4) Pereaksi Dragendrof | 13) HCl (P) |
| 5) Pereaksi Bouchardat | 14) Asam asetat anhidrat |
| 6) Serbuk Magnesium | 15) Aquadest |
| 7) HCl 2N | 16) Alumunium foil |
| 8) N-Heksan | |
| 9) Kertas saring | |

F. Prosedur Kerja Penelitian

a. Pembuatan serbuk simplisia daun sirih merah

- 1) Diambil daun sirih merah (*Piper crocatum*) segar yang sudah diidentifikasi morfologinya berdasarkan literatur.

- 2) Dilakukan sortasi basah dengan memisahkan daun sirih merah (*Piper crocatum*) dari kotoran dan bahan asing lain seperti tangkai.
- 3) Diletakkan daun sirih merah (*Piper crocatum*) di atas nampan stainless kemudian dikeringkan dengan menggunakan sinar matahari langsung dan ditutup dengan kain hitam.
- 4) Dilakukan sortasi kering dengan memilih daun sirih merah (*Piper crocatum*) dari bahan yang rusak atau benda asing serta pengotor lainnya yang tertinggal.
- 5) Diperhalus daun sirih merah (*Piper crocatum*) yang sudah kering dengan menggunakan blender agar menjadi serbuk kering.
- 6) Kemudian diayak daun sirih merah (*Piper crocatum*) menggunakan ayakan 40 mesh lalu masukan kedalam wadah yang kering, lalu simpan pada suhu ruangan.
- b. Pembuatan ekstrak daun sirih merah dengan cara maserasi (Marjoni, 2016: 41)
 - 1) Disiapkan wadah yaitu bejana yang digunakan untuk maserasi
 - 2) Disiapkan serbuk simplisia daun sirih merah (*Piper crocatum*) lalu timbang sebanyak 100 gram pada neraca analitik kemudian masukkan kedalam toples maserasi.
 - 3) Ditambahkan 700 ml etanol 96%, lalu aduk menggunakan spatula hingga homogen.
 - 4) Didiamkan selama 48 jam (2 hari) dan diaduk setiap 24 jam.
 - 5) Disaring menggunakan kertas saring dan dipisahkan antara hasil saringan dan endapan.
 - 6) Selanjutnya dilakukan remaserasi dengan 300 ml etanol 96% selama 48 jam (2 hari) dan diaduk setiap 24 jam.
 - 7) Disaring kembali hasil remaserasi dan dicampurkan semua maserat yang didapatkan.
 - 8) Maserat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* RE 100-Pro, dilanjutkan dengan penguapan di *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental

- c. Pembuatan ekstrak daun sirih merah dengan cara sokletasi (Marjoni, 2016: 9)
- 1) Disiapkan alat sokhlet dan serbuk simplisia daun sirih merah (*Piper crocatum*).
 - 2) Ditimbang simplisia daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebanyak 20 gram menggunakan neraca analitik.
 - 3) Dibungkus menggunakan kertas saring lalu dimasukkan ke dalam *thimble*.
 - 4) Dimasukan pelarut etanol 96% sebanyak 200 ml kedalam labu alas bulat.
 - 5) Penyarian dilakukan sampai tetesan siklus berwarna lebih pucat.
 - 6) Hasil ekstraksi dipekatkan dengan *waterbath*, sampai diperoleh ekstrak kental.
- d. Uji skrining fitokimia daun sirih merah

1) Uji Alkaloid

Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 0,5 gr kemudian ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling, dipanaskan di atas tangas air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring. Filtrat akan digunakan untuk percobaan berikut:

- a) Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer menghasilkan endapan putih atau kuning.
- b) Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat menghasilkan endapan coklat hitam.
- c) Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendrof menghasilkan endapan merah bata.

Apabila terdapat endapan putih paling sedikit dengan 2 atau 3 dari pengujian diatas, maka simplisia dinyatakan positif mengandung alkaloida.

2) Uji Flavonoid

- a) Sebanyak 10 gr ekstrak simplisia ditambahkan dengan 100 ml air panas.
- b) Didihkan selama kurang lebih 5 menit, kemudian saring ketika panas.
- c) Sebanyak 5 ml filtrat yang dihasilkan, ditambahkan 0,1 serbuk mg, 1 ml HCl pekat dan 2 ml amil alkohol kemudian dikocok dan dibiarkan memisah.
- d) Dinyatakan positif flavonoid apabila terjadi warna merah, kuning, jingga, pada lapisan amil alkohol.

3) Uji Saponin

- a) Sebanyak 0,5 gr ekstrak sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi.

- b) Ditambahkan 10 ml air suling panas, didinginkan kemudian dikocok kuat selama 10 detik.
 - c) Terbentuk buih atau busa selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm.
 - d) Tambahkan asam klorida 2 N, apabila buih tidak hilang menunjukkan positif saponin.
- 4) Senyawa polifenol
- a) Sebanyak 0,5 gr sampel diekstrak dengan ditambahkan 10 ml aquadest
 - b) Hasilnya kemudian disaring
 - c) Filtrat yang didapatkan, diencerkan sampai tidak berwarna
 - d) Diambil 2 ml
 - e) Ditambahkan dengan 1-2 tetes FeCl_3
 - f) positif mengandung terjadi warna biru atau hijau kehitaman
- 5) Uji Tanin
- a) Sebanyak 0,5 gr sampel diekstrak dengan ditambahkan 10 ml aquadest.
 - b) Hasilnya kemudian disaring
 - c) Diambil sebanyak 2 ml
 - d) Ditambahkan dengan 1-2 tetes Gelatin-NaCl.
 - e) Positif mengandung tanin jika terjadi gumpalan dan endapan.
- 6) Uji Minyak Atsiri
- a) Ditimbang sebanyak 0,5 gr sampel
 - b) Ditambahkan 5 ml aquadest
 - c) Dipanaskan larutan uji diatas hotplate
 - d) Hasil positif minyak atsiri ditandai dengan bau yang khas pada uap larutan uji
- 7) Uji Steroid dan Triterenoid
- a) Ditimbang sebanyak 1 gr sampel dimaserasi dengan 20 ml n-Heksana selama 2 jam kemudian disaring.
 - b) Filtrat diuapkan dalam cawan penguap.
 - c) Pada sisa ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat.
 - d) Positif mengandung triterpenoid ditandai dengan warna ungu atau merah, sedangkan positif mengandung steroid ditandai dengan warna hijau biru.

G. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel hasil penelitian yang menjelaskan berat rendemen, hasil metabolit sekunder dengan ekstraksi maserasi dan sokhletasi pada daun sirih merah (*Piper crocatum*).

2. Analisis Data

Analisis data yang dilakukan pada tahap ini adalah secara deskriptif, dimana hasil pengamatan akan dianalisis untuk mengetahui kesimpulan dari hasil pengujian.