

BAB III METODE PENELITIAN

A. Rancangan penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah bersifat deskriptif di Laboratorium dengan daun cengkeh yang dipanaskan menggunakan HCl 2N dengan suhu 100°C dan diekstrak dengan etil asetat kemudian ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis. Variabel penelitian diantaranya serbuk simplisia daun cengkeh, senyawa flavonoid golongan flavon, flavonol, biflavonil, dan glikoflavon.

B. Populasi dan Sampel penelitian

1. Populasi penelitian

Populasi penelitian ini adalah seluruh tanaman cengkeh yang terdapat di Tanggamus, Lampung

2. Sampel penelitian

Sampel penelitian ini adalah daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) L.M.Perry) yang diperoleh di Tanggamus, Lampung.

C. Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi & Teknologi Sediaan Steril Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Tanjungkarang untuk melakukan proses pembuatan simplisia, uji skrining fitokimia, serta uji kromatografi lapis tipis. Waktu penelitian ini yaitu Maret-Mei 2024.

D. Pengumpulan data

1. Cara pengumpulan data

Pengumpulan data dilakukan di laboratorium setelah dilakukannya elusi kromatografi lapis tipis. Data diambil berdasarkan hasil noda bercak dan nilai Rf yang terbentuk pada plat KLT. Data noda bercak tersebut diambil pada saat sebelum dan sesudah dilihat di bawah lampu UV dengan

panjang gelombang 254 nm. Kemudian, dihitung rumus Rf dengan rumus berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh sampel}}{\text{Jarak yang di tempuh pelarut}}$$

2. Alat dan bahan

a. Alat

Peralatan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah spatula, batang pengaduk, labu ukur, beaker glass, erlenmeyer, waterbath, pipa kapiler, silika gel F₂₅₄, neraca analitik, blender, pipet tetes, pipet volume, pipa kapiler chamber, penggaris, lampu UV 254 nm, gelas ukur, ayakan no 40, oven, corong gelas dan corong pisah.

b. Bahan

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah daun cengkeh, etil asetat, serbuk Mg, asam asetat, amil alkohol, HCl 2N, HCl pekat, aquadest, dan kertas saring.

3. Prosedur kerja penelitian

a. Identifikasi tanaman cengkeh

Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) L.M. Perry) tanaman ini dapat ditemukan di daerah cuku balak, Kabupaten Tanggamus. Identifikasi dilakukan dengan cara determinasi tanaman di laboratorium Botani Universitas Lampung untuk validitas tanaman cengkeh. Identifikasi dilakukan dengan melihat bagian-bagian tanaman berikut :

1) Bentuk daun

2) Bentuk tulang daun

3) Warna bunga

4) Bentuk batang daun cengkeh

b. Pembuatan simplisia daun cengkeh

1) Diambil daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) L.M.Perry) segar sebanyak 1,5 Kg.

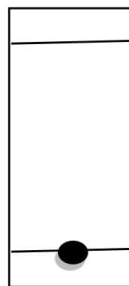
2) Dilakukan sortasi basah untuk memisahkan daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) L.M.Perry) dari kotoran maupun benda asing.

- 3) Dicuci daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) L.M.Perry) menggunakan air mengalir.
 - 4) Dirajang daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) L.M.Perry) untuk memperkecil ukuran daun.
 - 5) Diletakkan daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) L.M.Perry) yang telah dirajang di atas kain hitam dan ditutup menggunakan kain hitam kemudian dijemur di bawah sinar matahari hingga kering.
 - 6) Dilakukan sortasi kering daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) L.M.Perry) untuk memisahkan simplisia dari benda-benda asing maupun kotoran didapat daun cengkeh kering sebanyak 1,1 Kg.
 - 7) Diperhalus simplisia daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) L.M.Perry) menggunakan blender.
 - 8) Simplisia kering yang sudah menjadi serbuk diayak menggunakan pengayak No. 40 dan didapat serbuk simplisia kering sebanyak 0,7 Kg.
- c. Skrining fitokimia flavonoid
- 1) 1 gram serbuk simplisia daun cengkeh ditambahkan 10 ml air panas, dididihkan selama 5 menit.
 - 2) Sebanyak 5 ml filtrat ditambahkan 0,1 gram Mg, 1 ml HCl pekat, dan 2 ml amil alkohol, dikocok, dan dibiarkan memisah.
 - 3) Flavonoid positif jika menghasilkan warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol.
- d. Skrining fitokimia golongan flavonoid dengan metode klt
- 1) Tahap Persiapan Pembuatan Forestal
 - a) Disiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan.
 - b) Dibuat pengembang forestal, dengan cara masukkan 22 mL asam asetat, 2,3 mL HCl pekat dan 0,7 mL air (30:3:1) kedalam erlenmeyer pastikan larutan homogen.
 - c) Kemudian hasil larutan disimpan dalam wadah.
 - 2) Tahap Persiapan Pembuatan Reagen HCl 2N
 - a) Disiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan.
 - b) Diambil 41,5 mL HCl pekat menggunakan gelas ukur, masukkan ke dalam labu ukur 250 mL.

- c) Ditambahkan aquades hingga meniskus bawah batas labu ukur.
 - d) Kocok perlahan reagen, masukkan ke dalam botol reagen.
- 3) Tahap persiapan uji

Uji fitokimia yang dilakukan untuk mengidentifikasi flavonoid ini menggunakan metode Harborne. Metode ini tidak menggunakan blanko dan dilakukan perlakuan sebelum diekstrak dan setelah ekstrak. Setelah diekstrak, daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) L.M.Perry) dapat digunakan untuk analisis golongan flavonoid.

- a) Diambil 0,5 gram serbuk simplisia daun cengkeh.
 - b) Direndam serbuk simplisia daun cengkeh ke dalam 20 mL HCl 2N dan ditaruh ke dalam beaker glass.
 - c) Dipanaskan dengan suhu 100° C selama 30-40 menit.
 - d) Didinginkan kemudian disaring dengan menggunakan corong gelas dan kertas saring.
 - e) Diambil bagian cair, dilakukan ekstraksi dengan etil asetat sebanyak 3x 10 mL menggunakan corong pisah sebanyak 3 kali.
 - f) Ekstrak diuapkan hingga kering, kemudian ditambahkan 1-2 tetes etanol.
 - g) Ditotolkan sampel di plat silika gel F₂₅₄.
 - h) Dilakukan kromatografi dengan menggunakan pengembang forestal.
- e. Prosedur kromatografi
- 1) Disiapkan alat dan bahan.
 - 2) Dilakukan pemotongan lempeng silika gel F₂₅₄ dengan ukuran 10 cm x 3 cm, dengan batas-batas sebagai berikut : batas atas dengan tepi sepanjang 1 cm; batas bawah dengan tepi 1 cm; batas totalan dengan tepi kanan dan kiri 1,5 cm. Diilustrasikan sebagai berikut.



- 3) Dilakukan penjenuhan bejana kromatografi dengan eluen forestal.

- 4) Dilakukan aktivasi lempeng silika gel selama 30 menit pada suhu 100° C.
- 5) Ditotolkan ekstrak daun cengkeh sebanyak 2-10 µl menggunakan pipa kapiler pada lempeng silika gel F₂₅₄ yang telah ditandai.
- 6) Dielusi lempeng dalam bejana kromatografi pada suhu ruang.
- 7) Dipindahkan lempeng dan dikeringkan pada suhu ruangan.
- 8) Dideteksi dan diamati lempeng silika gel dengan lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm.
- 9) Diidentifikasi nilai Rf dan dilihat bercak di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm.
- 10) Uji pemeriksaan golongan flavonoid dengan cara mengidentifikasi noda bercak dan nilai Rf pada kromatogram.

E. Pengelolaan dan analisis data

Data-data hasil pengujian disajikan dalam bentuk tabel hasil penelitian berupa Rf dan bercak noda pada lempeng silika gel F₂₅₄ untuk mengetahui apakah daun cengkeh positif mengandung flavonoid dan mengidentifikasi golongan aglikon flavonoid yang terdapat pada daun cengkeh. Kemudian, data diolah dengan cara deskriptif kualitatif.