

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah bersifat deskriptif di laboratorium dengan ekstrak daun mantangan yang ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis. Variabel penelitian diantaranya ekstrak serbuk simplisia daun mantangan, senyawa flavonoid, flavon, flavonol, biflavonil, dan glikoflavon.

B. Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah ekstrak daun mantangan (*Merremia peltata* (L.) Merr) yang diperoleh di Pesawaran, Lampung.

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Jurusan Farmasi dan Jurusan Teknik Laboratorium Medik Politeknik Kesehatan Tangjungkarang untuk melakukan proses identifikasi tanaman, proses ekstraksi, dan uji skrining fitokimia, serta kromatografi lapis tipis. Waktu penelitian ini yaitu 20 Maret 2021 s.d. 06 Mei 2021

D. Pengumpulan Data

1. Cara Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan di laboratorium setelah dilakukannya elusi kromatografi lapis tipis. Data diambil berdasarkan hasil warna noda bercak dan nilai R_f yang terbentuk pada plat KLT. Data noda bercak tersebut diambil pada saat sebelum dan sesudah dilihat di bawah lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm. Kemudian, dihitung rumus R_f dengan rumus berikut.

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh oleh komponen}}{\text{jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

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 60 F254, neraca analitik, blender, pipet tetes, pipet volume, pipa kapiler chamber, penggaris, lampu UV 366 nm, gelas ukur, kain hitam, pengayak, oven, corong gelas, dan corong pisah.

b. Bahan

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

3. Prosedur Kerja Penelitian

a. Identifikasi Tanaman Mantangan

Merremia peltata (L.) Merr tumbuh di atas rerumputan atau di hutan. Tanaman ini dapat ditemukan di Ketapang, Kabupaten Pesawaran. Identifikasi tanaman mantangan dilakukan berdasarkan literatur *Van Oost Stroom dan Hoogland* pada tahun 1954. Identifikasi dilakukan untuk mengidentifikasi validitas tanaman mantangan. Identifikasi dilakukan dengan melihat bagian-bagian tanaman berikut (literatur dan hasil identifikasi daun mantangan terlampir).

- 1) Bentuk daun
- 2) Bentuk tulang daun
- 3) Warna bunga
- 4) Bentuk batang daun
- 5) Bentuk batang mantangan

b. Pembuatan Simplisia Daun Mantangan

- 1) Diambil daun mantangan (*Merremia peltata* (L.) Merr) segar.
- 2) Dilakukan sortasi basah untuk memisahkan daun segar *Merremia peltata* (L.) Merr dari kotoran maupun benda asing.
- 3) Dicuci daun mantangan (*Merremia peltata* (L.) Merr) menggunakan air mengalir.

- 4) Dirajang daun mantangan (*Merremia peltata* (L.) Merr) untuk memperkecil ukuran daun.
 - 5) Diletakkan daun mantangan (*Merremia peltata* (L.) Merr) yang telah dirajang di atas nampan dan ditutup menggunakan kain hitam kemudian dijemur di bawah sinar matahari sampai kering.
 - 6) Dilakukan sortasi kering daun mantangan untuk memisahkan simplisia dari benda-benda asing maupun kotoran.
 - 7) Diperhalus simplisia daun mantangan (*Merremia peltata* (L.) Merr) menggunakan blender.
 - 8) Simplisia kering yang sudah menjadi serbuk diayak menggunakan pengayak No. 44.
- c. Skrining Fitokimia Golongan Flavonoid
- 1) 1 gram serbuk simplisia daun mantangan 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
- 1) Tahap Persiapan Pembuatan Florestal
 - a) Disiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan.
 - b) Dibuat pengembang forestal, dengan cara menyampurkannya asam asetat : HCl pekat : air dengan perbandingan 30 : 3 : 1.
 - c) Hasil larutan disimpan dalam wadah.
 - 2) Tahap Persiapan Pembuatan Reagen HCl 2M
 - a) Disiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan.
 - b) Diambil 41,44 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 hidrolisis dan setelah hidrolisis. Setelah hidrolisis, ekstrak *Merremia peltata* (L.) Merr dapat digunakan untuk analisis golongan flavonoid.

- a) Diambil 0,5 gram serbuk simplisia daun mantangan.
- b) Direndam serbuk simplisia daun mantangan ke dalam HCl 2 M dan ditaruh ke dalam tabung reaksi.
- c) Dipanaskan dengan suhu 100°C selama 30-40 menit.
- d) Dipisahkan antara bagian padat dan bagian cair.
- e) Diambil bagian cair, didinginkan, dilakukan ekstraksi dengan etil asetat sebanyak 3x 10 mL dengan corong pisah sebanyak 2 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 florestal.

e. Prosedur Kromatografi

- a) Disiapkan alat dan bahan.
- b) 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.



- c) Dilakukan penjenuhan bejana kromatografi dengan eluen forestal.
- d) Dilakukan aktivasi lempeng silika gel selama 30 menit pada suhu 100°C.

- e) Ditotolkan ekstrak daun mantangan sebanyak 2-10 μ l menggunakan pipa kapiler pada lempeng silika gel F254 yang telah ditandai.
 - f) Dikembangkan lempeng dalam bejana kromatografi di ruang gelap pada suhu ruang.
 - g) Dipindahkan lempeng dan dikeringkan pada suhu ruangan.
 - h) Dideteksi dan diamati lempeng silika gel.
- f. Tahap Uji Golongan Aglikon Flavonoid Tumbuhan
- a) Disiapkan lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm.
 - b) Diidentifikasi nilai Rf dan dilihat warna bercak di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 366 nm.
 - c) Uji pemeriksaan golongan flavonoid dengan cara mengidentifikasi warna noda bercak dan nilai Rf pada kromatogram.

E. Pengolahan dan Analisis Data

Data-data hasil pengujian disajikan dalam bentuk tabel hasil penelitian berupa Rf dan warna bercak noda pada lempeng silika gel 60 F254 untuk mengetahui apakah daun mantangan positif mengandung flavonoid dan mengidentifikasi golongan aglikon flavonoid yang terdapat pada daun mantangan. Kemudian, data diolah dengan cara deskriptif kualitatif.