

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Objek Penelitian

Objek dalam penelitian ini yakni pengaruh metode ekstraksi maserasi dan perkolasi terhadap uji fitokimia dan KLT pada daun pepaya jepang (*Cnidoscolus aconitifolius*).

3.2 Sampel dan Teknik Sampling

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun pepaya jepang (*Cnidoscolus aconitifolius*) sampel daun pepaya ini diperoleh dari daerah kota Cirebon. Teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini yaitu menggunakan *random sampling* dimana pengambilan daun pepaya jepang diambil secara keseluruhan.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel ialah suatu karakteristik dari sebuah subjek penelitian, atau fenomena yang dikumpulkan harus mencakup pada tujuan dan kerangka konsep (Sudibyo dan Suharman, 2014).

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat mempengaruhi variabel lain. Variabel yang dimaksud dalam penelitian ini adalah suatu variabel yang sengaja diubah-ubah untuk mengetahui pengaruhnya terhadap variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi dengan metode maserasi dan perkolasi, serta metode identifikasi senyawa metabolit.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi akibat karena adanya pengaruh dari variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hasil skrining fitokimia dan KLT ekstrak daun pepaya jepang.

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol merupakan variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan sehingga hubungan variabel independen terhadap dependen tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti. Variabel kontrol yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel dan pelarut yang sama (sampel 20 gram : pelarut etanol 96%).

3.4 Teknik Pengumpulan Data

3.4.1 Cara Pengumpulan Data

1. Data yang digunakan bersifat deskriptif kualitatif dan kuantitatif
2. Metode pengumpulan data menggunakan eksperimen laboratorium Universitas Harkat Negeri

3.4.2 Alat dan Bahan

1. Alat

Alat pada penelitian ini berupa seperti timbangan analitik, Oven, blender, ayakan, gelas ukur, beaker glass, erlemeyer, batang pengaduk, corong, kertas saring, perkolator, cawan porselin, water bath, pipet tetes, lempeng KLT, chamber, lampu UV.

2. Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan-bahan diantara yakni daun pepaya jepang, etanol 96%, aquadest, kapas, aluminium foil, kertas

saring, HCl 2N, serbuk mg, Asam Asetat anhidrat, Gelatin, Sudan III, HCl p , FeCl₃ Reagen Mayer, dan Reagen Bauchardat.

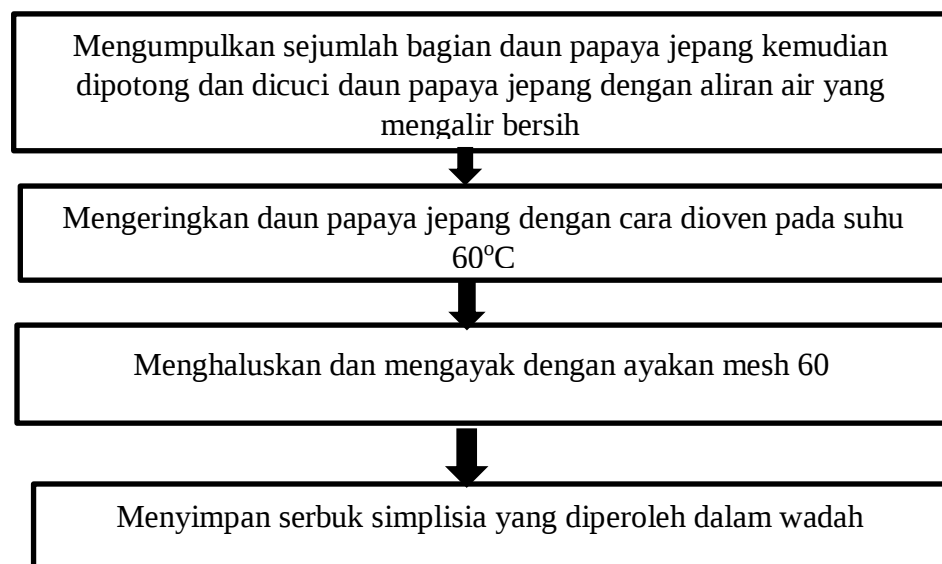
3.5 Cara Kerja

3.5.1 Pengumpulan Sampel

Pengumpulan sampel daun pepaya jepang (*Cnidioscolus aconitifolius*) yang berwarna hijau tua dan belum menguning, proses pengetikan diambil pada pagi hari dan didapatkan di Desa Cisaat, Kecamatan Waled, Kabupaten Cirebon.

3.5.2 Pengeringan dan Pengayakan Sampel

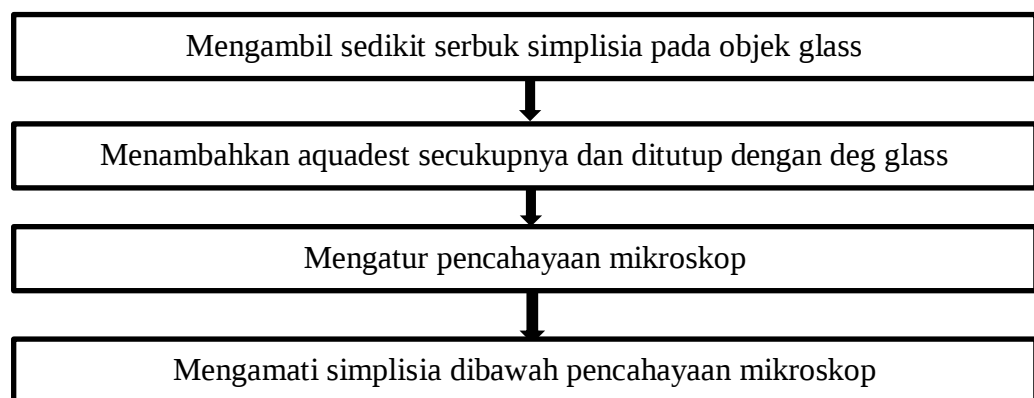
Daun papaya jepang tersebut kemudian dikumpulkan lalu dibersihkan dari kotoran, kemudian dipotong dan dicuci dengan air mengalir hingga bersih untuk selanjutnya dikeringkan oven. Setelah simplisia kering kemudian dihaluskan hingga mendapat serbuk simplisia yang halus. Simplisia yang diperoleh disimpan dalam wadah bersih, kering dan tertutup rapat (Handayani et al. 2019).



Gambar 3.1 Skema Pengeringan dan Pengayakan Sampel

3.5.3 Identifikasi Mikroskopik Serbuk Simplisia

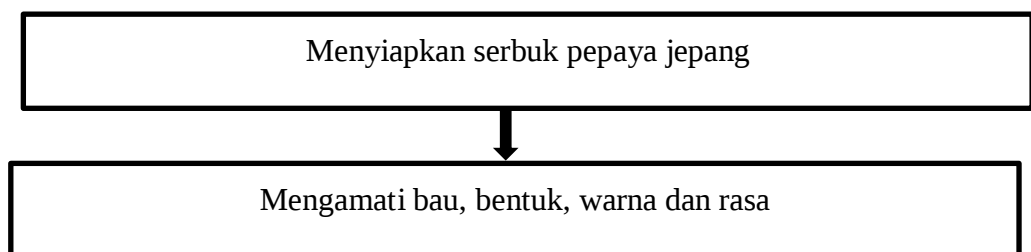
Identifikasi serbuk simplisia menggunakan alat mikroskop. Sedikit bagian dari serbuk simplisia diletakan pada objek glass dengan menambahkan sedikit aquadest secukupnya dan ditutup dengan deg glass kemudian mengatur pencahayaan mikroskop dan mengamati dibawah mikroskop (Handayani et al., 2019).



Gambar 3.2 Skema Identifikasi Mikroskopik

3.5.4 Identifikasi makroskopik serbuk

Uji makroskopik dilakukan dengan cara menggunakan kaca pembesar atau tanpa alat. Cara ini dilakukan untuk mengamati warna, bentuk, bau dan rasa dari daun pepaya jepang (Handayani et al., 2019).

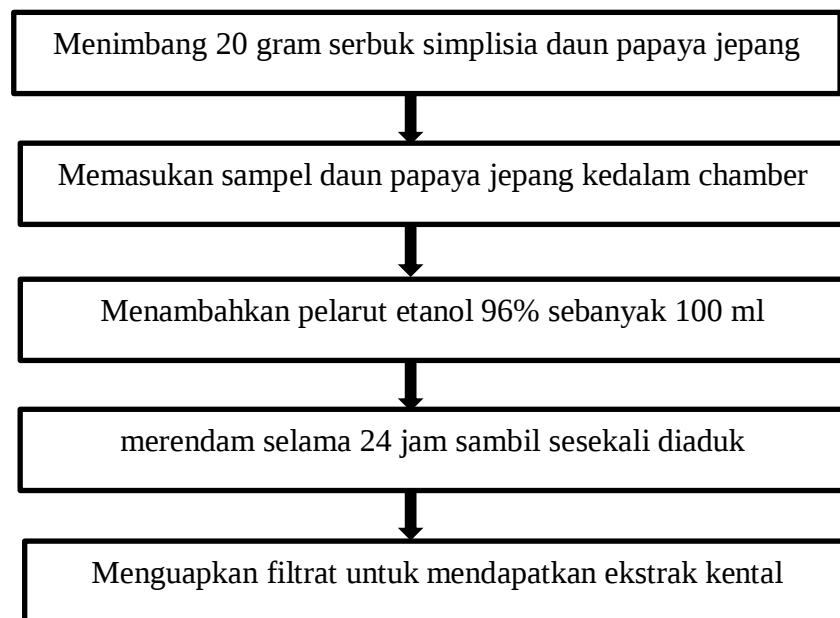


Gambar 3.3 Skema Identifikasi Makroskopik

3.5.5 Identifikasi Daun Pepaya Jepang

1. Maserasi

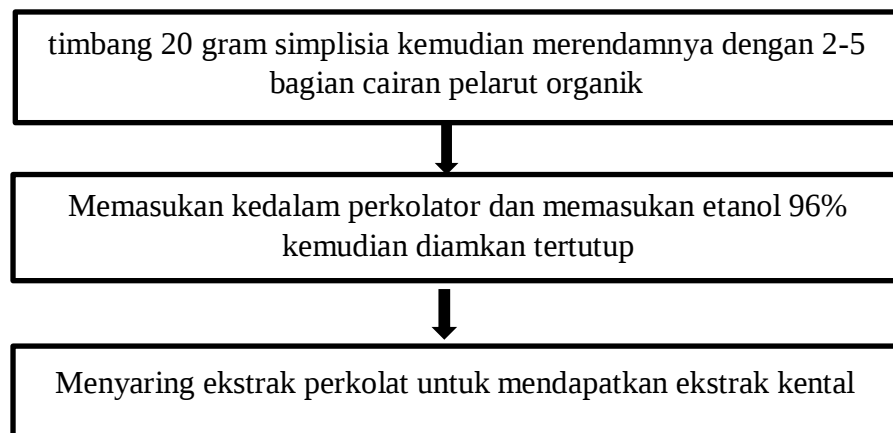
Simplisia daun pepaya jepang diambil sebanyak 20 gram kemudian diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 100 ml dengan perbandingan 1:5 rendam selama 24 jam sambil sesekali diaduk, selanjutnya hasil maserasi disaring untuk memisahkan ampas dan filtratnya, lalu filtrat tersebut dievaporasi sehingga didapat ekstrak kental (Marjoni, 2016).



Gambar 3.4 Identifikasi Ekstraksi Maserasi

2. Perkolasi

Simplisia ditimbang 20 gram kemudian akan melewati proses perendaman selanjutnya simplisia dimasukan kedalam perkolator yang sudah di lengkapi dengan kapas untuk menahan sarbuk simplisia, tuang pelarut etanol 96% sebanyak 100 ml secara perlahan sampai merendam seluruh masa. Kemudian didiamkan dalam keadaan tertutup selama 24 jam, setelah itu kran perkolator tersebut sedikit dibuka hingga pelarut yang digunakan menetes. Kemudian perkolat dimasukan kedalam benjena, lalu ditutup (Mokoginta, 2013).

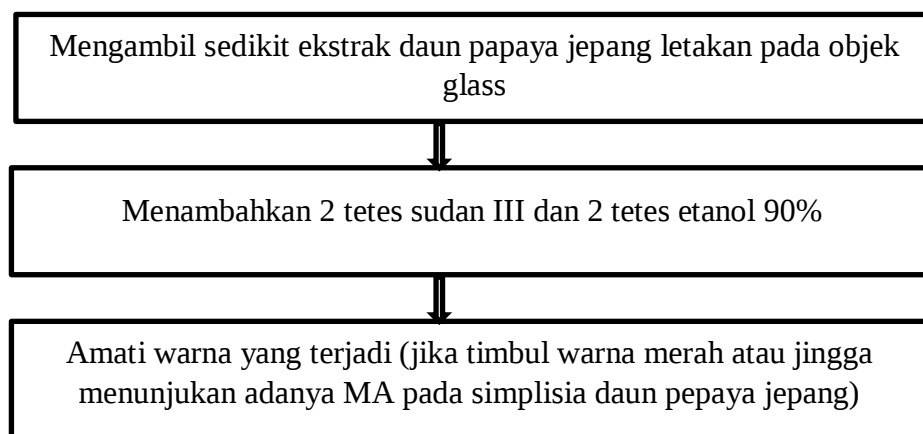


Gambar 3.5 Identifikasi Ekstraksi Perkolasi

3. Uji Skrining Fitokimia

a. Minyak Atsiri

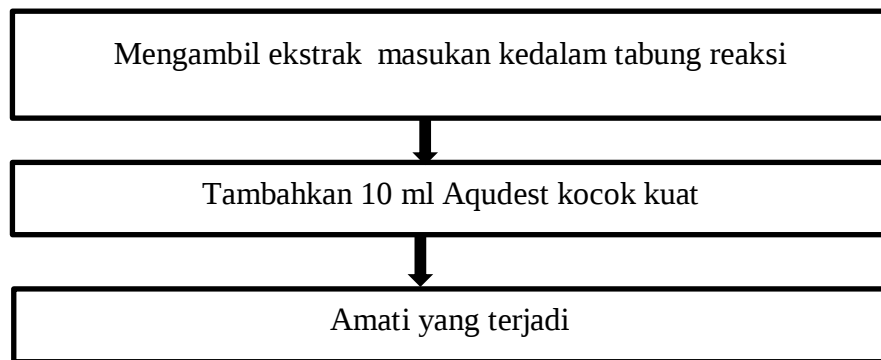
Mengambil sedikit ekstrak diletakan pada objek glass, kemudian menambahkan 2 tetes sudan III dan 2 tetes etanol 90%. Terakhir amati warna yang terjadi jika timbul warna jingga atau merah maka menunjukan adanya MA pada simplisia (Aryani, 2020).



Gambar 3.6 Skema Uji Minyak Atsiri

b. Saponin

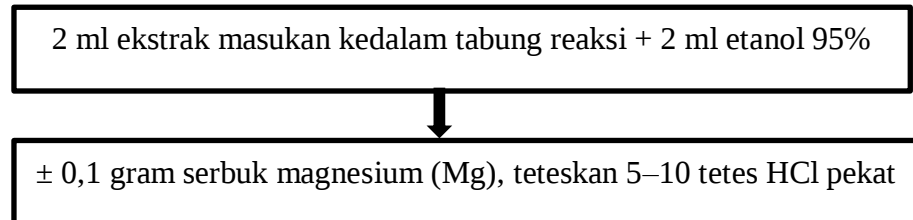
Uji senyawa. saponin dilakukan dengan ekstrak yang ditambahkan air panas sebanyak 10 ml, didinginkan lalu kocok selama 10 detik bila positif saponin terbentuk buih setinggi 1-10 cm minimal 10 menit dan pada penambahan 1 tetes HCl 2N, buih tidak ilang (sulistyarini dkk., 2020).



Gambar 3.7 Skema Uji Saponin

c. Flavonoid

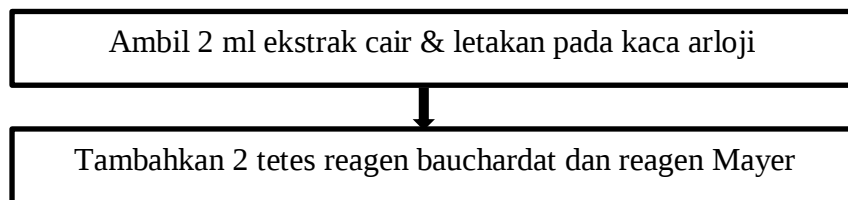
2 mL larutan ekstrak ke dalam tabung reaksi, tambahkan 2 mL etanol 95%, kocok homogen tambahkan $\pm 0,1$ gram serbuk magnesium (Mg), teteskan 5–10 tetes HCl pekat secara perlahan. Amati perubahan warna yang terjadi (Halimu dkk., 2017).



Gambar 3.8 Skema Uji Flavonoid

d. Alkaloid

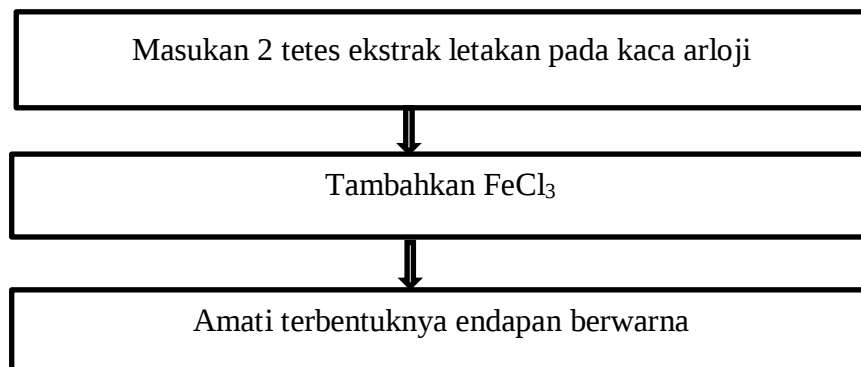
Ambil 2 ml ekstrak cair letakan pada kaca arloji, tambahkan 2 tetes reagen bauchard dan reagen mayer (Wardani dan Supartono, 2015).



Gambar 3.9 Skema Uji Alkaloid

e. Tanin

Memasukan 2 tetes ekstrak cair daun pepaya jepang kemudian letakan pada kaca arloji dan tambahkan FeCl_3 untuk tanin I dan tambahkan gelatin 3% untuk tanin II (Mojab et al., 2023).



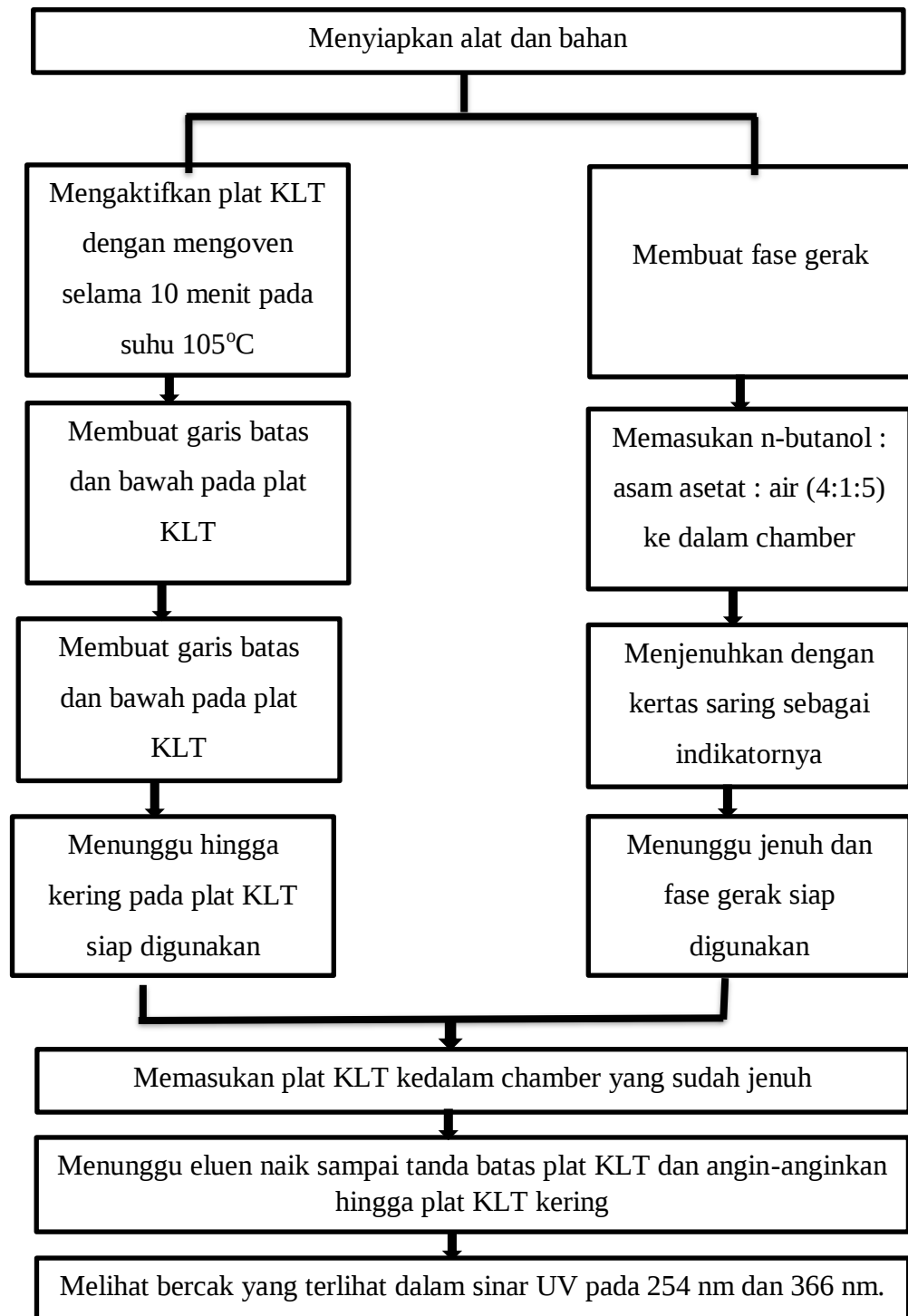
Gambar 3.10 Skema Uji Tanin

f. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Setelah diperoleh hasil rendemen, Siapkan alat dan bahan, kemudian panaskan plat KLT dengan silika gel selama 10 menit untuk mengurangi kadar air plat KLT. Selain itu, KLT dalam oven diberi batas atas dan batas bawah 1 cm untuk kemudahan

identifikasi, dan jarak yang ditempuh oleh pelarut diketahui untuk kemudahan perhitungan R_f , kemudian buat fase gerak dengan mengambil n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) kedalam bejana dan jenuhkan. Tujuan penjenuhan adalah untuk menyeimbangkan tekanan uap dari fase gerak yang digunakan agar pemisahan berlangsung dengan baik (Dewi et al., 2018).

Untuk menentukan apakah bejana telah jenuh dengan fase gerak, kertas saring ditempatkan didalam bejana selama proses elusi, dimana fase gerak diserap oleh gel silika. Selanjutnya, plat KLT yang sebelumnya diwarnai dengan sampel ditempatkan diruang jenuh. Dalam proses ini, sampel bergerak keatas melalui manik-manik silika gel dan senyawa yang teridentifikasi mengikuti pergerakan sampel. Setelah proses elusi, plat silika gel yang telah disiapkan ditandai naiknya eluen hingga garis batas atas, pelat KLT dilepas dan dikeringkan dengan udara. Kemudian liat penampakan titik bercak dibawah sinar UV 254 dan 366 nm. Eluen yang baik mampu memisahkan senyawa dalam jumlah besar yang ditandai dengan adanya noda. Syarat titik yang baik adalah bentuk titik tanpa ekor, dan jarak yang lain jelas. Proses berikut menganalisis R_f dan membandingkannya dengan R_f standar teoritis (Lutfiasari., 2016). Berikut identifikasi KLT secara skematis:



Gambar 3.11 Uji Identifikasi KLT

3.6 Analisis Data

Analisis data dilakukan secara deskriptif kualitatif berdasarkan hasil uji skrining fitokimia dan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) terhadap ekstrak daun pepaya jepang (*Cnidioscolus aconitifolius*) yang diperoleh melalui metode maserasi dan perkolasi.

Data penelitian diperoleh melalui serangkaian uji yang sistematis, pertama, dilakukan uji makroskopik dan mikroskopik pada simplisia daun pepaya jepang untuk memastikan keaslian dan mengamati karakteristik fisik, seperti warna, bentuk, bau, serta struktur seluler. Selanjutnya ekstrak daun dilakukan uji skrining fitokimia untuk mendeteksi keberadaan senyawa metabolit sekunder termasuk minyak atsiri, saponin, flavonoid, alkaloid, dan juga tanin. uji ini dilakukan dengan prosedur reagen spesifik yang menghasilkan perubahan warna atau busa sebagai indikator positif senyawa. Untuk memperkuat identifikasi, dilakukan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang memisahkan senyawa berdasarkan polaritasnya dan memungkinkan penentuan nilai R_f kemudian dibandingkan untuk melihat kesamaan atau perbedaan karakter senyawa yang diekstraksi menggunakan metode maserasi dan perkolasi. Seluruh hasil dianalisis secara deskriptif kualitatif untuk menilai pengaruh metode ekstraksi terhadap profil fitokimia daun pepaya jepang, sehingga dapat disimpulkan metode mana yang lebih efektif dalam mengekstraksi senyawa tertentu.