

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental melalui uji skrining fitokimia senyawa alkaloid dan flavonoid ekstrak etanol 96% daun pepaya. Penelitian eksperimental merupakan jenis penelitian untuk menentukan hubungan sebab akibat antara dua fenomena. Variabel bebas penelitian ini adalah metode pengeringan, sedangkan variabel terikat penelitian ini adalah skrining senyawa alkaloid dan flavonoid. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Muhammadiyah Gresik dan penelitian ini dimulai pada bulan September 2023-Juni 2024, Pengambilan data dilakukan pada bulan Januari-Februari 2024.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bejana maserasi, blander (Miyako), batang pengaduk, pipet 5 mL, corong kaca 90 mm, tabung reaksi, penjepit kayu, kain flanel, pisau, gelas ukur 200 mL (herma), kertas alumunium, ayakan no mesh 45 (Retsch), Erlenmeyer 200 mL, rak tabung reaksi (Herma), kaca arloji, timbangan analitik (Centarus Scale), plastic warp, thermometer, cawan porselen 35 mL (Herma), dan alat waterbath (Thermostat Water Bath HH-6).

3.2.2 Bahan

Dalam penelitian ini, bahan utama yang digunakan adalah daun pepaya segar, berwarna hijau hingga hijau tua, permukaan daun licin yang berasal dari desa Gunung Teguh, kecamatan Sangkapura, kabupaten Gresik (pulau Bawean). Bahan lainnya yang digunakan adalah, aquades, etanol 96%, HCl 2N, reagen Mayer, reagen Dragendorff, Serbuk (Mg).

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Preparasi Simplisia

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pepaya segar, berwarna hijau hingga hijau tua, permukaan daun licin yang berasal dari Desa Gunung Teguh, kecamatan Sangkapura, kabupaten Gresik (pulau Bawean). Tahapan yang dilakukan yaitu dengan penyiapan sampel berupa daun pepaya, kemudian melakukan sortasi basah dengan memisahkan daun pepaya dari kotoran atau bagian yang tidak diperlukan. Tahap selanjutnya adalah pencucian dengan menggunakan air mengalir untuk membersihkan daun pepaya dari kotoran. Setelah itu, daun melawati proses perajangan dan di keringkan dengan 3 metode pengeringan yaitu pengeringan di bawah sinar matahari langsung, pengeringan di tempat teduh yang diangin-anginkan, dan pengeringan dengan oven (Rachman, 2016; Julianto, 2019; dan Fahmi *et al.*, 2020). Pengeringan di bawah sinar matahari langsung dilakukan dengan cara menata daun yang akan dikeringkan di lantai yang dialasi paranet dan terkena sinar matahari sambil dibolak-balik setiap harinya. Pengeringan diangin-anginkan dilakukan dengan cara daun pepaya yang akan dikeringkan diletakkan di balkon ditaruh di atas paranet yang dikaitkan dengan kursi. Pengeringan menggunakan oven dengan suhu $\leq 50^{\circ}\text{C}$. Kriteria daun dikatakan kering apabila tulang daun ketika ditekek rapuh. Kemudian dilakukan sortasi kering untuk memisahkan kotoran dan benda asing yang masih tertinggal pada simplisia daun. Setelah itu, melakukan penghalusan menggunakan blender hingga menjadi serbuk dan dilanjutkan dengan pengayakan menggunakan ayakan mesh 40. (Sangande *et al.*, 2021).

3.3.2 Ekstraksi

Langkah pertama yang dilakukan yaitu menimbang serbuk simplisia sebanyak 200 gram untuk tiap metode pengeringan. Serbuk dari ketiga metode pengeringan dimaserasi dengan cara dimasukkan ke dalam bejana yang berbeda dan tiap bejana ditambah dengan pelarut etanol

96% sebanyak 500 mL. Perendaman dilakukan 3x24 jam. Proses pengadukan dilakukan sebanyak 2 kali tiap hari. Bejana maserasi dilapisi dengan alumunium foil agar terlindung dari cahaya matahari yang dapat merusak metabolit sekunder dalam ekstrak pada saat proses maserasi. Pada hari ketiga dilakukan proses penyaringan untuk memisahkan ampas dan filtrat yang didapatkan (Waruwu *et al.*, 2021). Filtrat yang didapatkan dari proses maserasi diuapkan menggunakan waterbath pada suhu 40⁰C, lalu dihitung rendemen ekstrak kental dari proses maserasi (Kartini dan Hasanah, 2022).

3.3.3 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder, yaitu alkaloid dan flavonoid. Tiap pengujian dilakukan 3 kali pengulangan.

1. Uji Flavonoid

a. Uji Wilstater

1 mL ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan beberapa tetes HCl pekat dan ditambah sedikit serbuk Mg. Hasil positif mengandung flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna kuning (Ikalinus., 2015). Pada uji ini blanko yang digunakan adalah kuarsetin ditambahkan dengan beberapa tetes HCl pekat dan sedikit serbuk Mg.

b. Uji Bate-Smith

1 mL ekstrak kental dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan HCl pekat beberapa tetes. Kemudian campuran dipanaskan diatas penangas. Lalu amati perubahan warna, terbentuk warna merah menunjukkan adanya flavonoid (Rahayu *et al.*, 2015). Pada uji ini blanko yang digunakan adalah kuarsetin ditambahkan dengan beberapa tetes HCl pekat.

2. Uji Alkaloid

a. Uji Dragendorff

Ekstrak 2ml diasamkan dengan beberapa tetes HCl. Kemudian ditambahkan 1 mL reagen Dragendorff. Munculnya endapan berwarna jingga hingga merah menunjukkan adanya alkaloid (Thilagavathi *et al*, 2015). Pada uji ini blanko yang digunakan terdiri ekstrak yang diencerkan dengan pelarut etanol 96%.

b. Uji Mayer

Ekstrak 2ml diasamkan dengan beberapa tetes HCl. Kemudian ditambahkan 1 mL reagen Mayer. Munculnya endapan putih kekuningan menunjukkan adanya alkaloid (Thilagavathi *et al*, 2015). Pada uji ini blanko yang digunakan terdiri dari ekstrak yang diencerkan dengan pelarut etanol 96%.

3.4 Analisis Data

Pada penelitian ini akan diperoleh beberapa data, diantaranya selisih berat daun pepaya sebelum dan sesudah pengeringan, randemen, dan hasil skrining fitokimia. Data tersebut disajikan dalam bentuk tabel. Berikut ini beberapa analisis yang dilakukan :

3.4.1 Selisih Berat Daun Pepaya Sebelum Dan Sesudah Pengeringan.

Tabel 3.1 Jumlah Ekstrak Etanol Daun Pepaya

| Metode pengeringan | Jumlah Ekstrak Cair (ml) | Jumlah Ekstrak Kental (gram) |
|------------------------|--------------------------|------------------------------|
| Dibawah Sinar Matahari | | |
| Diangin-anginkan | | |
| Oven | | |

3.4.2 Analisis Hasil Randemen

Ekstrak yang didapat pada proses ekstraksi dari masing- masing metode pengeringan dihitung massanya setelah diuapkan diatas waterbath hingga diperoleh ekstrak kental. Adapun perhitungan randemen ekstrak yang didapatkan sebagai berikut:

$$\% \text{ Ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh (g)}}{\text{Bobot simplisia awal}} \times 100\%$$

Tabel 3.2 Indikator Hasil Randemen

| Metode pengeringan | Pelarut | Bobot simplisia | Bobot ekstrak | Randemen% |
|------------------------|---------|-----------------|---------------|-----------|
| Dibawah sinar matahari | Etanol | | | 96% |
| Diangin-anginkan | Etanol | | | 96% |
| Oven | Etanol | | | 96% |

3.4.3 Analisis Hasil Skrining Fitokimia

Analisis hasil penelitian ini didasarkan pada perubahan warna yang terjadi pada ekstrak daun pepaya dengan ditambahkan HCl pekat, pita magnesium, reagen Mayer dan reagen Dragendrof.

Tabel 3.3 Indikator Hasil Warna Uji Senyawa Flavonoid

| Uji | B | P1 | | | P2 | | | P3 | | | |
|----------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|--|
| | | U1 | U2 | U3 | U1 | U2 | U3 | U1 | U2 | U3 | |
| Uji Wilstater | | | | | | | | | | | |
| Uji Bate Smith | | | | | | | | | | | |

Keterangan :

- P1 = Pengeringan dibawah matahari
- P2 = Pengeringan diangin-anginkan
- P3 = Pengeringan oven
- U1 = Uji ke 1
- U2 = Uji ke 2
- U3 = Uji ke 3
- B = Blanko

Tabel 3.4 Indikator Uji Senyawa Flavonoid

| Uji | P1 | | | P2 | | | P3 | | |
|----------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | U1 | U2 | U3 | U1 | U2 | U3 | U1 | U2 | U3 |
| Uji Wilstater | | | | | | | | | |
| Uji Bate Smith | | | | | | | | | |

Keterangan :

- P1 = Pengeringan dibawah matahari
 P2 = Pengeringan diangin-anginkan
 P3 = Pengeringan oven
 U1 = Uji ke 1
 U2 = Uji ke 2
 U3 = Uji ke 3

Tabel 3.5 Indikator Hasil Warna Uji Senyawa Alkaloid

| Uji | B | P1 | | | P2 | | | P3 | | |
|----------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | | U1 | U2 | U3 | U1 | U2 | U3 | U1 | U2 | U3 |
| Uji Dragendorf | | | | | | | | | | |
| Uji Mayer | | | | | | | | | | |

Keterangan :

- P1 = Pengeringan dibawah matahari
 P2 = Pengeringan diangin-anginkan
 P3 = Pengeringan oven
 U1 = Uji ke 1
 U2 = Uji ke 2
 U3 = Uji ke 3
 B = Blanko

Tabel 3.6 Indikator Uji Alkaloid

| Uji | P1 | | | P2 | | | P3 | | |
|----------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | U1 | U2 | U3 | U1 | U2 | U3 | U1 | U2 | U3 |
| Uji Dragendorf | | | | | | | | | |
| Uji Mayer | | | | | | | | | |

Keterangan :

- P1 = Pengeringan dibawah matahari
 P2 = Pengeringan diangin-anginkan
 P3 = Pengeringan oven
 U1 = Uji ke 1
 U2 = Uji ke 2
 U3 = Uji ke 3