

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Praktikum**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari sampai bulan Juli 2023. Waktu pengambilan data dilakukan pada bulan Juni 2023 di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Muhammadiyah Gresik.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat Penelitian**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat Soxhletasi, bejana maserasi, beaker glass 250 mL (*Herma*), batang pengaduk, corong, Erlenmeyer 200 mL (*Herma*), labu ukur 250 mL (*Herma*), labu ukur 50 mL (*Herma*), penangas air (*Thermostat Water Bath HH-6*), pipet tetes, aluminium foil, tabung reaksi (*Herma*), penjepit kayu, blender (*Miyako*), gelas ukur 250 mL (*Herma*), gelas ukur 100 mL (*Herma*), gelas ukur 5 mL (*Herma*), kertas saring, pisau, pinset, ayakan mesh no.45 (*Retsch*), timbangan analitik (*Centarus Scale*), cawan porselin 35 mL (*Herma*) dan kaca arloji.

##### **3.2.2 Bahan Penelitian**

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang berasal dari daerah Dusun. Gendong, Kelurahan Romokalisari, Kecamatan Benowo Surabaya, bahan lain nya yang dibutuhkan antara lain etanol 80% yang didapatkan dari pengeceran etanol 96%, pereaksi n-heksana, HCl pekat, pita magnesium, butanol dan aquadest.

#### **3.3 Prosedur Penelitian**

##### **3.3.1 Pengenceran etanol 96% menjadi 80%**

Larutan etanol 80% sebanyak 300 mL dibuat dari larutan etanol 96% dilakukan dengan cara pengeceran dengan rumus :

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 96\% = 250 \times 80$$

$$V_1 = 250 \times 80 / 96\%$$

$$V_1 = 208,3 \text{ mL dibulatkan menjadi } 208 \text{ mL}$$

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 96\% = 50 \times 80$$

$$V_1 = 50 \times 80 / 96\%$$

$$V_1 = 41,6 \text{ mL.}$$

### 3.3.2 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang diambil dari Desa Dukuh Gendong, Kecamatan Romokalisar, Kecamatan Benowo, Surabaya. Hanya daun saja yang digunakan sebagai sampel. Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebanyak 3 kg dipisahkan dari kotoran dan bagian yang tidak diperlukan. Kesederhanaannya kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kuman dan kotoran. Kemudian diangin-anginkan hingga benar-benar kering hingga menjadi rapuh di tangan (Harrizul dkk, 2014). Daun sirih yang telah dikeringkan kemudian digiling dengan blender hingga menjadi bubuk kemudian diayak untuk mendapatkan hasil bubuk yang sama dengan melewati ayakan no 45 *mesh*.

### 3.3.3 Ekstraksi

#### a. Maserasi

Serbuk simplisia daun sirih hijau ditimbang sebanyak 100 g. Kemudian diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 80% sebanyak 300 mL, lalu dicampur di dalam wadah maserasi kemudian diaduk dan ditutup rapat, kemudian disimpan di tempat yang teduh yang terhindar oleh sinar matahari dan didiamkan selama 3 hari dan diaduk secara berulang-ulang. Kemudian larutan dilakukan penguapan pelarut secara konvensional hingga terbentuk ekstrak kental atau kering (Nisyak dkk, 2022). Setelah itu, dihitung rendemen ekstrak yang diperoleh dengan rumus :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang di peroleh (gram)}}{\text{Bobot simplisia sebelum di ekstraksi}} \times 100\%$$

b. Soxhletasi

Cara pembuatan ekstraksi soxhletasi daun sirih hijau (*Piper betle* L.) mengambil sebanyak 100 gram simplisia kering, kemudian dibungkus dengan kertas saring, selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung soxhletasi dengan suhu 60 derajat Celcius, kemudian dsoxhletasi dilakukan dengan menggunakan etanol 80% sebanyak 400 ml dan dihentikan saat cairan pada tabung Soxhletasi tidak berwarna. Kemudian ekstraksi yang diperoleh diuapkan dengan *water bath* dan didapatkan ekstrak kental. Setelah itu, dihitung rendemen ekstrak yang diperoleh dengan rumus :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang di peroleh (gram)}}{\text{Bobot simplisia sebelum di ekstraksi}} \times 100\%$$

3.3.4 Pengujian Senyawa Flavonoid

A. Uji Wilstater/Sianidin

Identifikasi senyawa flavonoid melalui uji Wilstater/Sianidin dengan cara uji warna, langkah yang di lakukan adalah dengan cara ekstrak daun sirih hijau (*Piper betel* L.) yang telah diekstraksi ditambahkan *n*-heksana kemudian ditambahkan dengan HCl pekat dan Mg dan akan terdeteksi mengandung flavon apabila terbentuk warna merah jingga, dan juga akan terbentuk warna pucat jika mengandung flavonol, dan terbentuk warna merah tua jika mengandung flavanon (Nasyanka dkk, 2020). Pengujian ini dilakukan pengulangan sampai 3 kali. Untuk larutan blanko yaitu sampel ditambahkan *n*-heksana kemudian ditambahkan dengan pelarut etanol dengan konsentrasi 80%.

B. Uji bate-Smith

Sebanyak 1 mL ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan HCl pekat beberapa tetes. Kemudian campuran dipanaskan diatas penangas. Lalu amatl perubahan warna, terbentuk warna merah menunjukkan adanya

flavonoid golongan antosianidin (Rahayu dkk., 2015). Pengujian ini dilakukan pengulangan sampai 3 kali.

### 3.4 Analisis Data

Analisis hasil penelitian ini didasarkan pada hasil rendeman ekstrak dari masing-masing metode ekstraksi serta perubahan warna yang terjadi perubahan warna yang terjadi pada ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) ditambahkan serbuk magnesium, dan HCl pekat.

#### 3.4.1 Perhitungan Rendeman

Hasil rendeman ekstrak daun sirih hijau dapat di hitung dengan rumus :

$$\% \text{ Rendeman} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang di peroleh (gram)}}{\text{Bobot simplisia sebelum di ekstraksi}} \times 100\%$$

Tabel 3. 1 Rendeman Ekstrak

Metode	Pelarut	Bobot simplisia	Bobot ekstrak	Rendeman %
Maserasi	Etanol 80%			
Soxhletasi	Etanol 80%			

Tabel 3. 2 Skrining Senyawa Flavonoid

Metode	Uji			Uji Bate		
	Wilstater			Smith		
	Flavon			Antosianidin		
	U1	U2	U3	U1	U2	U3
Maserasi						
Soxhletasi						

Ket:

U1 : Uji ke 1

U2 : Uji ke 2

U3 : Uji ke 3