

BAB III

METODE PENELITIAN

1.1 Rancangan dan Jenis Penelitian

Rancangan dan jenis penelitian yang direncanakan berupa eksperimen laboratorium. Penelitian ini termasuk dalam kategori kualitatif, di mana dilakukan skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol daun binahong menggunakan ekstraksi metode maserasi dan metode soxhletasi.

1.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2023 – April 2024 di Laboratorium Bahan Alam Universitas Borneo Lestari.

1.3 Populasi dan Sampel

Populasi penelitian yang digunakan adalah tanaman binahong yang terdapat di Desa Tegalrejo, Kelumpang Hilir, Kabupaten Kotabaru. Sampel yang diambil yaitu daun binahong berwarna hijau segar yang tumbuh menjalar.

1.4 Variabel Penelitian

1.4.1 Variabel Bebas

Ekstrak Etanol 96% dari daun binahong yang diekstraksi dengan maserasi dan soxhletasi.

1.4.2 Variabel Terikat

Nilai %rendemen dan kandungan metabolit sekunder ekstrak daun binahong.

1.5 Alat dan Bahan

1.5.1 Alat

Penelitian ini menggunakan peralatan alat soxhlet, batang pengaduk, blender (cosmos), cawan penguap, tabung reaksi (Pyrex), corong kaca (Pyrex), gelas beker (Pyrex),), wadah kaca, labu ukur (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), pengayak, pipet tetes, pipet ukur, kertas saring, aluminium foil (Klinpak), *waterbath* (Memmert UN55), *rotary evaporator* (IKAFR10), timbangan analitik (Ohaus), tabung reaksi (Pyrex), dan penangas air (memmert).

1.5.2 Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan daun binahong, etanol 96% (OneMed), aquadest, asam sulfat (H_2SO_4) (Merck), asam asetat anhidrat ($C_4H_6O_3$) (Merck), besi III klorida ($FeCl_3$) (Arkitos), asam klorida (HCl) (Merck), pereaksi *dragendorff*, pereaksi *wagner*, pereaksi *mayer*, larutan gelatin (Oxoid), dan serbuk magnesium (Merck).

1.6 Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data Penelitian

1.6.1 Determinasi Tanaman

Sampel tanaman binahong dideterminasi di Laboratorium Dasar FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan.

1.6.2 Pengambilan Sampel dan Pengolahan Simplisia

Daun binahong berat basah sebanyak 500 gram disortir, kemudian dibersihkan dengan air bersih. Setelah dicuci, bahan ditiriskan,

dipotong, dan dijemur. Daun binahong yang kering diblender dan disaring dengan ayakan nomor 40, ditentukan %rendemennya (Herawati & Amelia, 2018). Berikut rumus menghitung %rendemen simplisia:

$$\% \text{Rendemen Simplisia} = \frac{\text{Bobot Total Simplisia}}{\text{Bobot Total Daun Segar}} \times 100\%$$

1.6.3 Pembuatan Ekstrak

1) Maserasi

Proses maserasi penelitian ini merupakan modifikasi dari penelitian Saputri dkk (2019). Sebanyak 150 mililiter pelarut etanol 96% dicampur dengan 15 gram serbuk simplisia daun binahong. Ekstrak diaduk setiap 6 jam selama 24 jam, dan prosedur remaserasi diulangi dua kali dengan menggunakan perbandingan pelarut yang sama. Ekstrak cair yang dihasilkan kemudian dipisahkan dengan pelarut dengan *rotary evaporator* dan pemekatan dengan *waterbath* pada suhu 40°C hingga memiliki konsistensi kental dan bobot stabil.

2) Soxhletasi

Metode soxhletasi dilakukan dengan menimbang 15 gram simplisia. Setelah itu, simplisia dikemas dengan kertas saring. Sebanyak 240 mL pelarut etanol 96% ditambahkan ke dalam labu, dan soxhletasi dilakukan hingga 25–30 siklus pada suhu 60–70°C, atau hingga cairan menjadi tidak berwarna. Pemisahan ekstrak dengan pelarut dengan Rotary evaporator dan pemekatan ekstrak

dalam *waterbath* pada suhu 40°C hingga mencapai berat yang konsisten (Rosita et al., 2017).

1.6.4 Perhitungan %Rendemen Ekstrak

Setelah didapatkan ekstrak kental maka dihitung %rendemennya. Sebelum dihitung %rendemennya ekstrak ditimbang dulu hingga mencapai bobot tetap. Bobot tetap adalah berat suatu zat yang tetap atau stabil setelah dikeringkan selama 1 jam, dan hasilnya dari penimbangan sebelumnya tidak berbeda lebih dari 0,5 mg. Setelah mendapatkan bobot tetap, kemudian dihitung persentase rendemennya. Adapun rumus perhitungan rendemennya sebagai berikut :

$$\% \text{Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{Bobot Total Ekstrak}}{\text{Bobot Total Simplisia}} \times 100\%$$

1.6.5 Skrining Fitokimia

1) Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak kental diuji dengan menambahkan 5 ml asam klorida (HCl). Larutan dibagi menjadi 3 tabung uji. Pereaksi *Dragendorff* ditambahkan pada tabung pertama sebanyak 3 tetes, pereaksi *Mayer* ditambahkan pada tabung kedua sebanyak 3 tetes, dan pada tabung ketiga ditambahkan pereaksi *Wagner* sebanyak 3 tetes. Keberadaan alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan jingga pada tabung pertama, endapan putih hingga kekuningan pada tabung kedua, dan pada tabung ketiga terbentuk endapan coklat atau merah (Simaremare, 2014). Proses ini dilakukan

pada masing-masing ekstrak yang diekstraksi menggunakan metode maserasi dan metode soxhletasi, kemudian hasilnya dibandingkan.

2) Uji Flavonoid

Sebanyak 50 mg ekstrak dicampur dengan 100 ml air panas, kemudian dididihkan selama 5 menit, lalu disaring. Setelah dikocok, 5 ml filtrat dicampur dengan 0,05 mg bubuk Mg dan 1 ml HCl pekat. Perubahan warna menjadi merah, kuning, atau oranye menunjukkan adanya flavonoid positif (Studi *et al.*, 2022). Setiap ekstrak hasil maserasi dan soxhletasi dilakukan prosedur ini dan hasilnya dibandingkan.

3) Uji Fenol

Sebanyak 3 tetes larutan besi III klorida (FeCl_3) 1% ditambahkan pada 50 mg ekstrak yang larut dalam etanol. Ekstrak yang mengandung fenolik mempunyai rona hitam kehijauan (Habibi *et al.*, 2018). Baik metode maserasi maupun ekstrak metode soxhletasi dilakukan dalam pengujian ini dan hasilnya dibandingkan.

1) Uji Tanin

Sebanyak 50 mg ekstrak daun binahong di larutkan di dalam akuades 30 menit di *waterbath* kemudian disaring. Larutan garam 2% (NaCl) ditambahkan ke sebagian filtrat terlarut. Jika terjadi endapan, kertas saring digunakan untuk menyaring filtrat, dan selanjutnya ditambahkan gelatin 1%. Endapan merupakan tanda adanya tanin atau bahan kimia terkait (Kusbandari *et al.*, 2018).

Metode sokhletasi dan ekstraksi maserasi dilakukan prosedur ini lalu dibandingkan hasilnya.

4) Uji Steroid/Terpenoid

Sebanyak 50 mg ekstra daun binahong dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambah 10 tetes asam asetat anhidrat ($C_4H_6O_3$) dan 2 tetes asam sulfat (H_2SO_4) pekat. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan beberapa menit. Jika ekstrak mengandung steroid maka warna akan berubah menjadi hijau kebiruan. Jika mengandung terpenoid, warna berubah membentuk cincin coklat atau violet (Yanti & Vera 2019). Ekstrak hasil metode ekstraksi maserasi dan sokhletasi dibandingkan hasilnya.

5) Uji Saponin

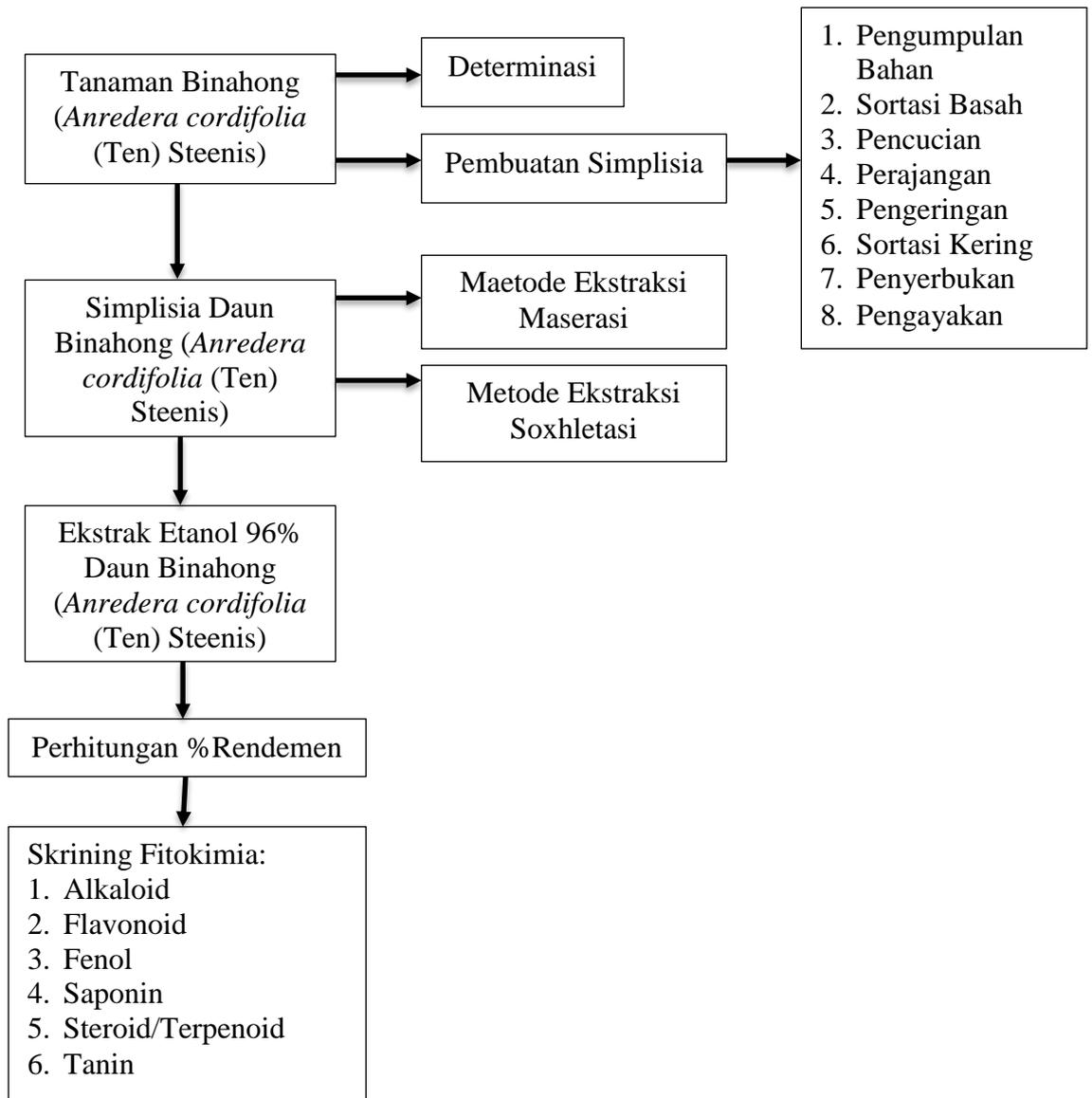
Sebanyak 50 mg ekstrak etanol dari daun binahong dimasukkan dalam tabung reaksi dan dicampur dengan 10 mL air panas lalu dikocok 10 detik. Larutan dibiarkan membuih selama 10 menit. Setelah itu, asam klorida (HCl) 2N ditambahkan sebanyak 1 tetes. Buih yang tidak menghilang menunjukkan hasil positif untuk saponin (Warnida *et al.*, 2018). Masing-masing ekstrak hasil maserasi dan sokhletasi dibandingkan hasilnya.

1.7 Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis dengan menghitung persentase rendemen ekstrak dan mengamati tabung reaksi pada setiap uji skrining fitokimia untuk menentukan keberadaan reaksi positif atau negatif terhadap zat aktif ekstrak

etanol 96% daun binahong. Selanjutnya, hasil pengamatan dibandingkan antara ekstrak yang diekstraksi menggunakan metode maserasi dan soxhletasi.

1.8 Kerangka Operasional



Gambar 9. Kerangka Operasional