

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan dan Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental deskriptif yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan jenis pelarut terhadap kandungan senyawa meabolit sekunder pada ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.).

3.2 Waktu dan Tempat

3.2.1 Waktu Penelitian

Waktu penelitian akan dilakukan mulai bulan Desember 2023 sampai April 2024.

3.2.2 Tempat Penelitian

Laboratorium Bahan Alam Universitas Borneo Lestari untuk ekstraksi dan uji skrining fitokimia pada ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.).

3.3 Variabel Penelitian

Variabel-variabel yang digunakan pada penelitian ini meliputi:

3.3.1 Variabel Bebas (Independen)

Variabel independen, yang juga dikenal sebagai variabel bebas, adalah variabel yang memiliki pengaruh atau menyebabkan perubahan pada variabel dependen (terikat). Variabel independen memiliki kemampuan untuk mempengaruhi atau menjadi penyebab dari perubahan

atau kehadiran variabel dependen (Ulfa, 2021). Variabel bebas pada penelitian ini yaitu ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.).

3.3.2 Variabel Terikat (Dependen)

Variabel dependen adalah variabel yang terpengaruh atau mengalami perubahan sebagai hasil dari variabel bebas (Ulfa, 2021). Variabel dependen dalam penelitian ini adalah hasil dari uji skrining fitokimia yang mencakup alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, steroid/triterpenoid dan fenol.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah ayakan mesh 40, aluminium foil, batang pengaduk, *blender*, cawan penguap, gelas ukur (*Pyrex*®), gelas beaker (*Pyrex*®), *hot plate*, kertas saring, kertas label, *Erlenmeyer* (*Iwaki*®), oven, pipet ukur, pipet tetes, penjepit tabung reaksi, *rotary evaporator* (*IKFR 10*®), tabung reaksi (*Iwaki*®), toples kaca, timbangan analitik (*Fujitsu*®) dan *waterbath* (*Memmert*®).

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquades (*OneMed*®), air panas, aluminium foil (*Klinpak*®), asam asetat anhidrat (*Merck*®), asam sulfat (*Merck*®), daun pandan wangi, etanol 96% (*Merck*®), etil asetat (*Ensure*®), FeCl₃ (*Arkitos*®), gelatin (*Merck*®) HCl pekat (*Merck*®), Kloroform (*Smart-lab*®), *Liebermann-Burchard* (*Bio*

analitika®), NaCl, pereaksi *Mayer*, pereaksi *Wagner*, pereaksi *Dragendorff*, serbuk Mg (*Merck*®), sarung tangan (*OneMed*®) dan tisu (*Nice*®).

3.5 Prosuder Penelitian

3.5.1 Determinasi Daun Pandan wangi

Sampel daun pandan wangi di Determinasi di Laboratorium dasar FMIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru, Kalimantan Selatan.

3.5.2 Pengambilan dan Pembuatan Simplisia Daun Pandan Wangi

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman daun pandan wangi yang diperoleh dari Desa Datu Kuning Daerah Hulu Sungai Utara. Daun pandan wangi yang tersebut kemudian disortasi saat masih basah, dicuci dengan air mengalir, ditiriskan, dipotong dan diekringan menggunakan oven pada suhu 50°C. Simplisia yang sudah kering dihaluskan dengan blender dan disaring menggunakan ayakan mesh 40 untuk menghasilkan serbuk simplisia (Maulia, 2021).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat total simplisia}}{\text{Berat total daun segar}} \times 100\%$$

3.5.3 Pembuatan Ekstrak Daun Pandan Wangi

Ekstraksi daun pandan wangi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan 500 ml pelarut etanol 96% dan 500 ml pelarut etil asetat dengan proses pengulangan (remaserasi) dua kali. Serbuk kering daun pandan wangi sebanyak 100 g dimasukkan ke dalam wadah kaca dan direndam dengan pelarut etanol 96% serta pelarut etil asetat masing-masing selama satu hari, dengan sesekali diaduk. Setelah itu, hasil

ekstraksi disaring dan ampasnya diremaserasi. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*, diuapkan *di waterbath* dan menghasilkan ekstrak kental (Sentat, 2016).

Adapun rumus perhitungan rendemennya sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat simplisia awal}} \times 100\%$$

3.5.4 Uji Skrining Fitokimia

Untuk melakukan skrining fitokimia, terlebih dahulu larutan sampel dibuat dengan perbandingan (1:1) yaitu menggunakan ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat, untuk membentuk larutan sampel terlebih dahulu ditimbang masing-masing 10 mg ekstrak kental, kemudian dilarutkan dengan 10 mL pelarutnya di dalam beaker glass lalu dilakukan identifikasi sebagai berikut:

1. Uji Alkaloid

Sebanyak 1 mL larutan sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 mL HCl 2 N. Kemudian dipanaskan diatas *waterbath* selama 2 menit dan dinginkan. Pada tabung reaksi pertama sampel ekstrak selanjutnya disaring dan ditambahkan 3-5 tetes pereaksi *Dragendorff*. Akan terbentuk endapan jingga jika positif alkaloid. Pada tabung kedua sampel ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi *Mayer*, akan terbentuk endapan berwarna putih. Pada tabung ke tiga sampel ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan 2

tetes pereaksi *Wagner* dan akan terbentuk endapan berwarna coklat atau jingga kecoklatan (Putri & Lubis, 2020).

2. Uji Flavonoid

Larutan sampel diambil 1 mL, kemudian ditambahkan 0,2 g magnesium dan ditetesi dengan HCl pekat serta amil alkohol di dalam tabung reaksi. Hasil positif senyawa flavonoid jika berubah warna menjadi kuning sampai dengan merah (Najmudin *et al.*, 2023).

3. Uji Tannin

1 mL larutan sampel diambil dan dicampur dengan 1 mL larutan gelatin 1% yang mengandung NaCl. Terbentuknya endapan dalam larutan menunjukkan bahwa sampel positif mengandung senyawa tannin (Wila *et al.*, 2018).

4. Uji Saponin

Sebanyak 2 mL larutan sampel dicampur dengan 2 mL air panas dalam tabung reaksi kemudian dikocok dengan kuat selama 10 detik. Jika terbentuk buih selama 10 menit. Setelah itu, ditambahkan dengan 1 tetes HCl 2N. Jika buih tidak hilang setelah penambahan HCl maka saponin dianggap positif (Warnida *et al.*, 2018).

5. Uji Steroid/triterpenoid

Larutan sampel diambil sebanyak 1 mL, lalu ditambahkan klorofom. Setelah itu, ditambahkan dengan pereaksi *Liebermann-Burchard* (asam asetat anhidrat dan asam sulfat). Terbentuknya cincin biru kehijauan menunjukkan adanya steroid dan terbentuknya cincin

kecoklatan atau violet menunjukkan adanya senyawa triterpenoid (Yuda *et al.*, 2017).

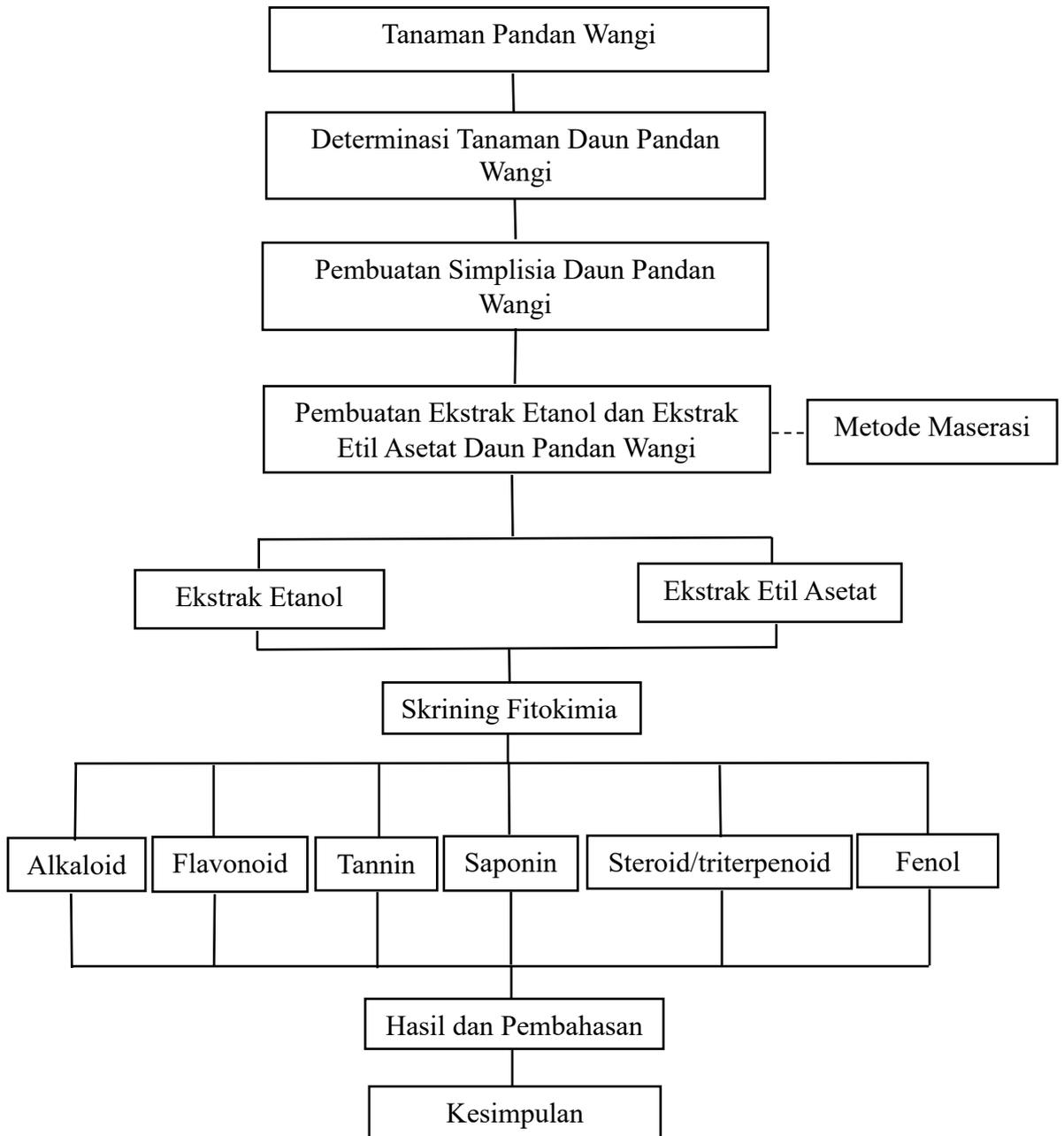
6. Uji Fenol

Larutan sampel sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 1 mL FeCl₃ 1%. Ekstrak positif mengandung fenol apabila menghasilkan hijau kehitaman (Habibi *et al.*, 2018).

3.6 Analisis Data

Analisis data hasil penelitian dilakukan dengan melakukan pengamatan uji skrining fitokimia ekstrak daun pandan wangi yang dilakukan pada tabung reaksi disetiap uji apakah terjadi reaksi positif ataupun negatif bahwa mengandung senyawa metabolit sekunder. Kemudian pengamatan tersebut dibandingkan antara blanko yang berisi ekstrak dengan pelarut dan tabung reaksi yang berisi ekstrak dengan pereaksi pada masing-masing ekstrak pelarut etanol dan ekstrak pelarut etil asetat. Lalu bandingkan kembali dengan hasil uji skrining fitokimia antara kedua pelarut tersebut.

3.7 Kerangka Operasional



Gambar 1. Kerangka Operasional

