

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini bersifat deskriptif yang bertujuan untuk mengetahui profil senyawa metabolit sekunder (antrakuinon, saponin, flavonoid, tanin) pada tanaman lidah buaya (*Aloe vera*) dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Penelitian ini meliputi persiapan, pelaksanaan, tahap akhir.

Tahap persiapan dalam penelitian ini meliputi menentukan populasi dan sampel penelitian, menentukan lokasi dan waktu penelitian, serta menghitung, kebutuhan bahan dan penimbangannya, kemudian mempersiapkan peralatan yang diperlukan sesuai kebutuhan.

Tahap pelaksanaan yang dilakukan determinasi tanaman lidah buaya, pembuatan simplisia tanaman lidah buaya yang sebelumnya dicuci terlebih dahulu untuk membersihkan kotoran tanaman lalu dipotong menjadi dua bagian dan diambil daging lidah buaya kemudian dipotong kecil kecil dan dikeringkan atau dioven setelah kering simplisia di blender agar menjadi serbuk halus yang kemudian dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Selanjutnya akan diskriminasi fitokimia agar mengetahui kandungan metabolit sekunder lidah buaya, yang kemudian dilanjutkan dengan metode kromatografi Lapis Tipis (KLT). Metode ini diharapkan untuk mendapatkan informasi sejumlah senyawa metabolit sekunder (flavonoid, saponin, antrakuinon, tanin) yang terkandung dalam ekstrak lidah buaya.

Pada tahap akhir adalah penggolongan data dan membuat kesimpulan tentang menganalisis profil KLT senyawa-senyawa metabolit sekunder ekstrak lidah buaya (*Aloe vera*).

3.2 Populasi Sampel

1. Populasi penelitian ini adalah ekstrak tanaman lidahbuaya (*Aloe vera*) dengan pelarut etanol 70%.
2. Sampel sebagian ekstrak tanaman lidah buaya (*Aloe vera*) dengan pelarut etanol 70%.

3.3 Preparasi Sampel

Sampel lidah buaya (*Aloe vera*) sebanyak 2kg dicuci dan dikeringkan dengan oven pada suhu 40⁰C (Astuti, 2013). Lidah buaya yang kering dilakukan pembレンダーan bertujuan untuk memperkecil partikel dan untuk memperoleh serbuk halus maka dilakukan pengayakan dengan ayakan 60 mesh (Makalalag, 2013)

3.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian ini dilakukadi laboratorium Farmakognosi Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang pada bulan Februari sampai Mei 2019.

3.5 Definisi Oprasional Variabel

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak lidah buaya variabel terikat dalam penelitian ini adalah senyawa metabolit sekunder dengan metode skrining fitokimia dan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis dari ekstrak lidah buaya

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi oprasional	Alat ukur	Hasil ukur
Ekstrak lidah buaya	Ekstrak diambil dari lidah buaya yang masih segar dengan metode maserasi menggunakan pelarut ethanol 70% selama 3x24 jam	Neraca analitik dan piknometer	Rendemen dan berat jenis
	Karakteristikpenguji an kimia tentang pengujian skrining fitokimia meliputi uji senyawa metabolit sekunder (antrakuinon, saponin, flavonoid, terpenoid,alkaloid)	Pengamatan visual	Uji warna yang signifikan sesuai dengan literatur
	Karateristik KLT senyawa metabolit sekunder (antrakuinon, saponin, flavonoid, terpenoid,alkaloid) menggunakan fase diam silika gel 60 F ₂₅₄ dengan fase gerak tertentu dan penampak noda spesifik.	Pengamatan visual noda	R _f dan warna noda yang spesifik

3.6 Pengumpulan Data

3.6.1 Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rotary evaporator, pipa kaliper, Erlemeyer, plat kromatografi lapis tipis silicat gel 60 F₂₅₄, water bath, chember, lampu UV 366.

Bahan-bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak lidah buaya (*Aloe vera*), Aquadest (H_2O), Asam klorida (HCl) 10%, Etil asetat ($CH_3COOC_2H_5$), Kalium hidroksida (KOH) 10%, Metanol (CH_3OH), Natrium sulfat (Na_2SO_4) (Merck), n-heksana (C_6H_{14}) redestilasi, Etanol 70%.

3.6.2 Prosedur Kerja

3.6.2.1. Determinasi

Determinasi adalah mencari informasi yang tepat sasaran dari tanaman lidah buaya yang akan diteliti di Material Medika Batu.

3.6.2.2 Tahap pembuatan simplisia

1. Diambil tanaman lidah buaya
2. Dicuci dengan air mengalir hingga bersih
3. Dibelah menjadi dua dan diambil daging lidah buaya
4. Dipisahkan kulit dan daging lidah buaya
5. Dipotong tipis tipis daging dan kulit lidah buaya
6. Dikeringkan atau dioven potongan daging dan kulit lidah buaya
7. Diblender simplisia hingga halus
8. Diayak simplisia yang sudah diblender

3.6.2.3. Pembuatan Ekstrak (Tien R,*et al.*, 2006)

1. Ditimbang 200gram simplisia
2. Dilarutkan menggunakan pelarut etanol 70%
3. Menyiapkan alat untuk maserasi
4. Dimaserasi selama 3x 24jam
5. Diambil ekstrak kental

6. Ditimbang ekstrak kental
7. Dihitung hasil rendemen
8. Rendemen dinyatakan dalam bentuk presentase berat ekstrak yang dihasilkan per berat sampel, dapat dirumuskan sebagai berikut :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3.6.2.4. Prosedur perhitungan berat jenis

1. Digunakan piknometer yang bersih dan kering
2. Ditimbang piknometer kosong (W_1), lalu diisi dengan air suling, bagian luar piknometer dilap sampai kering dan ditimbang
3. Dibuang air suling tersebut, dikeringkan piknometer lalu diisi dengan cairan yang akan diukur bobot jenisnya (W_2) pada suhu 25°C yang sama pada saat pengukuran air suling, dan ditimbang.
4. Dihitung bobot jenis cairan menggunakan persamaan rumus sebagai berikut

$$\text{Berat jenis} = \frac{W_1}{w_2}$$

3.6.3.5. Skrining Fitokimia

3.6.3.5.1 Uji skrining senyawa Antrakuinon (Putri dkk., 2015)

1. Sebanyak 50 mg ekstrak
2. Ditambah 10 mL air kemudian dipanaskan selama 5 menit
3. Disaring. Sebanyak 3 mL larutan dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi,
4. Ditabung 1 ditambahkan beberapa tetes larutan NaOH 1 N bila positif maka terbentuk larutan berwarna merah dan.
5. Ditabung 2 sebagai kontrol

3.6.3.5.2 Uji skrining senyawa saponin (Indrayani, 2006)

1. Ditimbang 50 mg ekstrak lidah buaya
2. Dimasukkan tabung reaksi
3. Ditambahkan 3 mL air sambil dikocok selama 1 menit (apabila menimbulkan busa)
4. Ditambahkan 2 tetes HCl 1 N
5. Ditunggu akan muncul buih secara stabil

3.6.3.5.3 Uji skrining senyawa Fitokimia flavonoid (Indrayani, 2006)

1. Ditimbang 2 mg ekstrak lidah buaya
2. Dimasukkan ke dalam tabung reaksi
3. Dilarutkan dengan 1-2 mL metanol panas
4. Ditambahkan logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat
5. Ditunggu perubahan warna endapan kuning.

3.6.3.5.4 Uji skrining Fitokimia tanin (Putri dkk., 2015)

1. Diambil 50 mg ekstrak lidah buaya
2. Dimasukkan ke dalam tabung reaksi
3. Ditambahkan 3 mL aquades
4. Dididihkan dan disaring. Setelah itu 0,5 mL filtrat ditambahkan ferriklorida 0,1% (FeCl_3)
5. Diamati terjadinya perubahan warna. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya hijau gelap/ biru.

3.6.3.5.5 Uji KLT senyawa Antrakuinon

1. Fase diam yang digunakan dalam skrining ini adalah Silicagel F₂₅₄ ukuran 7 x 6 cm.
2. Fase gerak: n- heksan : etil asetat dengan perbandingan (7:3). Penampak noda: Kalium hidroksida (KOH) 10%, jika adanya senyawa antrakuinon ditunjukkan dengan terjadinya warna : merah untuk Kalium hidroksida (KOH) 10%.(Depkes RI, 1996)

3.6.3.5.5 Uji KLT senyawa saponin

1. Fase diam yang digunakan dalam skrining ini adalah Silicagel F₂₅₄ ukuran 7 x 6 cm.
2. Fase gerak:etil asetat : n- heksan (1:4) penampakan noda: anisaldehyda asam sulfat, antimon klorida, adanya saponin ditunjukkan dengan terjadinya warna merah ungu (ungu) untuk anisaldehyda asam sulfat dan merah muda untuk antimon klorida.

3.6.3.5.6 Uji KLT senyawa tanin

1. Fase diam yang digunakan dalam skrining ini adalah silicagel F₂₅₄ ukuran 7 x 6 cm.
2. Fase gerak: metanol : aquadest (6:4) penampak noda: anisaldehyd asam pereaksi anisaldehyd asam sulfat jika menunjukkan adanya warna ungu-merah atau ungu setelah penyemprotan pereaksi anisaldehyd senyawa terpenoid/steroid dalam ekstrak. (Indrayani, 2006)

3.6.3.5.7 Uji KLT senyawa Flavonoid

1. Fase diam yang digunakan dalam skrining ini adalah silicagel F₂₅₄ ukuran 7 x 6 cm yang kemudian dipotong sesuai kebutuhan.

2. Fase gerak: asam asetat glacial, butanol, air (1 : 4 : 5). Penapakan noda yang sangat spesifikasi menggunakan asam sulfat menunjukkan adanya senyawa flavonoid. . (Wagner, 1996)

3.7 Analisa Data

Data dari hasil penelitian ini dianalisis secara kualitatif dengan menjabarkan hasil yang diperoleh dalam bentuk tabel dan gambar serta melakukan analisis dengan membandingkan dengan literatur.