

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan jenis penelitian eksperimental. Penelitian eksperimental adalah penelitian yang melakukan kegiatan percobaan dengan tujuan untuk mengetahui gejala atau pengaruh yang timbul akibat suatu perlakuan atau intervensi tertentu. Penelitian eksperimental melibatkan kelompok pembandingan atau kelompok control (Weriana, 2023).

Penelitian ini termasuk jenis penelitian yang dilakukan dengan metode eksperimental laboratorium. Penelitian yang dilakukan berupa analisis senyawa alkaloid dalam ekstrak etanol dan metanol daun ciplukan (*Physalis Angulata L.*) dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT).

3.2 Populasi dan sampel

3.2.1 Populasi penelitian

Populasi merujuk pada seluruh objek penelitian yang hendak diteliti. (Imron, 2019). Populasi yang menjadi fokus dalam penelitian ini ialah tanaman ciplukan (*Physalis Angulata L.*)

3.2.2 Sampel penelitian

Sampel merupakan sebagian dari jumlah dan ciri-ciri yang terdapat dalam populasi tersebut (Imron, 2019). Sampel dalam rangka penelitian ini ialah simplisia daun ciplukan (*Physalis Angulata L.*) yang diperoleh dari Materia Medica Batu.

3.3 Definisi Operasional dan Variabel

3.3.1 Definisi Operasional

3.3.1.1 Daun ciplukan atau *Physalis angulata* dikenal di Indonesia sebagai “ciplukan”. Daun ciplukan telah diketahui mengandung berbagai macam senyawa, antara lain asam klorogenat, asam alaidat, asam

sitrat, asam malat, tannin, kriptoxantin, physalin, saponin, terpenoid, flavonoid, polifenol, alkaloid dan steroid (Rohyani,dkk. 2015). Pada penelitian ini daun yang digunakan adalah daun ciplukan yang masih segar, tidak berlubang, tidak busuk, dan tidak kering.

3.3.1.2 Alkaloid adalah senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom nitrogen, yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan. Alkaloid berperan dalam metabolisme dan mengendalikan perkembangan dalam sistem kehidupan tumbuhan. Sebagian besar senyawa alkaloid bersumber dari tumbuh-tumbuhan

3.3.1.3 Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur suhu ruang. Proses ekstraksi ini dilakukan dengan cara merendam sampel pada suhu kamar menggunakan pelarut yang sesuai, sehingga dapat melarutkan analit dalam sampel.

3.3.1.4 Kromatografi Lapis Tipis (Thin Layer Chromatography/TLC) adalah teknik pemisahan senyawa yang digunakan untuk mengidentifikasi komponen-komponen individu dalam campuran senyawa, khususnya senyawa organik. Dalam konteks penelitian ini, TLC digunakan untuk memisahkan dan mengidentifikasi senyawa alkaloid dalam ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata* L).

3.3.1.5 Nilai *Retardaction Factor* (Rf) merupakan parameter karakteristik kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis, nilai Rf pada kromatografi lapis tipis yang bagus berkisar antara 0,2 - 0,8. Hasil perhitungan Rf digunakan sebagai nilai perbandingan relative antar sampel, nilai Rf juga menyatakan derajat retensi suatu komponen dalam fase diam sehingga nilai Rf sering juga disebut faktor retensi.

3.3.1.6 Uji penelitian alkaloid meliputi, uji skrining fitokimia menggunakan reagen meyer dan dragendrof

3.3.2. Variabel bebas

Variabel bebas (Variabel *Independent*) merupakan faktor yang memiliki pengaruh atau menyebabkan perubahan pada variabel dependen, yang menjadi perhatian utama dalam penelitian. Dalam penelitian ini, variabel bebasnya adalah yakni pelarut metanol dan etanol dengan konsentrasi masing – masing 70% dan 96% .

3.3.3 Variabel Terikat

Variabel terikat (Variabel *dependent*) merupakan faktor yang terpengaruh oleh variabel bebas. Dalam penelitian ini, variabel terikatnya adalah alkaloid pada daun ciplukan (*Physalis Angulata L.*)

3.3.4 Variabel terkontrol

Dalam penelitian ini, variabel terkontrolnya adalah sampel yang diperoleh dari Materia Medica Batu, suhu pengentalan ekstrak menggunakan waterbath, penggunaan larutan eluen kromatografi lapis tipis, lama waktu maserasi

3.4 Lokasi dan Waktu penelitian

3.4.1 Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian ini adalah di Laboratorium Kimia Terpadu dan Laboratorium Farmasetika STIKes Panti Waluya Malang

3.4.2 Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada pada bulan Februari – April 2024

3.5 Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini timbangan analitik, batang pengaduk, *waterbath*, beaker glass, cawan porselen, gelas ukur, pipet volume, corong kaca, pipa kapiler, chamber, kaca penutup, plat KLT, lampu UV, oven, penggaris, pensil. Bahan yang digunakan adalah serbuk kering daun ciplukan, metanol, kloroform, etanol, aquadest, reagen mayer Dragendorf, HCl 2N

3.6 Prosedur penelitian

3.6.1 Penyiapan sampel

Sampel daun ciplukan diperoleh dari Materia Medica Batu pada pengambilan satu waktu dengan menggunakan pengeringan pada oven dengan suhu 60⁰C dengan dengan waktu selama 4-5 hari, lalu dilakukan determinasi tanaman. Kemudian ditimbang untuk dijadikan bahan ekstrak yang akan diuji skrining fitokima dan kromatografi lapis tipis.

3.6.2 Pembuatan Ekstrak Daun Ciplukan dengan Metode Maserasi

Ekstraksi daun ciplukan. dilakukan dengan metode maserasi dengan suhu ruang (25-30⁰C) menggunakan empat perbandingan pelarut yang berbeda berbeda, yaitu metanol 70% & 96% dan etanol 70% & 96% . Proses maserasi yang digunakan yaitu perbandingan rasio pelarut 1: 8 (Mareta, 2023). Menimbang 100 gram serbuk daun ciplukan. Memasukan kedalam masing-masing maserator tambahkan pelarut (metanol 70% & 96% dan etanol 70% & 96%) sebanyak 800 ml lalu tutup rapat. Diamkan selama 5 hari dengan pengadukan setiap hari. Setelah 5 hari, keluarkan ekstrak dari maserator, kemudian saring menggunakan kain flanel, memasukan ekstrak ke cawan porselin, kemudian uapkan dengan *waterbath* dengan suhu 50⁰c hingga diperoleh ekstrak kental (Andasari, 2020).

3.6.3 Identifikasi Skrining Alkaloid dengan Pereagen Meyer dan Dragendorf

Preparasi sampel dilakukan dengan cara menimbang sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambahkan dengan 1 mL HCl 2N dan 9 mL akuades, kemudian dipanaskan selama 2 menit, didinginkan, dan disaring.

a. Penambahan reagen meyer

Filtrat ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer akan memberikan hasil positif dengan terbentuknya endapan putih.

b. Penambahan reagen dragendrof

Filtrat ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorf akan memberikan hasil positif dengan terbentuknya endapan jingga (Sapri *et al.*, 2014).

3.6.4 Aktivasi kromatografi lapis tipis

Dilakukan dengan cara mengeringkan lempengan klt di dalam oven dengan suhu 110°C selama 30 menit akan menghasilkan silica gel aktif yang memuaskan (baik). Secara umum, sudah terbukti bahwa pemanasan dengan temperatur 110°C selama 30 menit memberikan hasil yang memuaskan sebagai hasil kompromi antara keaktifan dan waktu yang diperlukan untuk mempersiapkan plat (Rosamah, 2019).

3.6.5 Uji Kromatografi Lapis Tipis

Setelah mendapatkan ekstrak, kemudian identifikasi metode KLT, dengan menggunakan plat KLT ukuran 10 x 10 cm dengan jarak 1 cm dari tepi atas 1,5 cm dari tepi bawah. Jarak penotolan untuk masing-masing sampel uji adalah 2 cm (elsa, 2018). Kemudian membuat fase gerak dengan menggunakan beberapa eluen di masukan ke dalam chamber dan di jenuhkan kertas saring ke dalam chamber sebagai tanda fase gerak yang dibuat sudah jenuh atau belum. Selanjutnya ekstrak yang sudah di peroleh di totolkan pada garis bawah KLT. Kemudian plat KLT dimasukan dalam chamber yang berisi fase gerak, menunggu hingga eluen naik sampai batas atas plat KLT

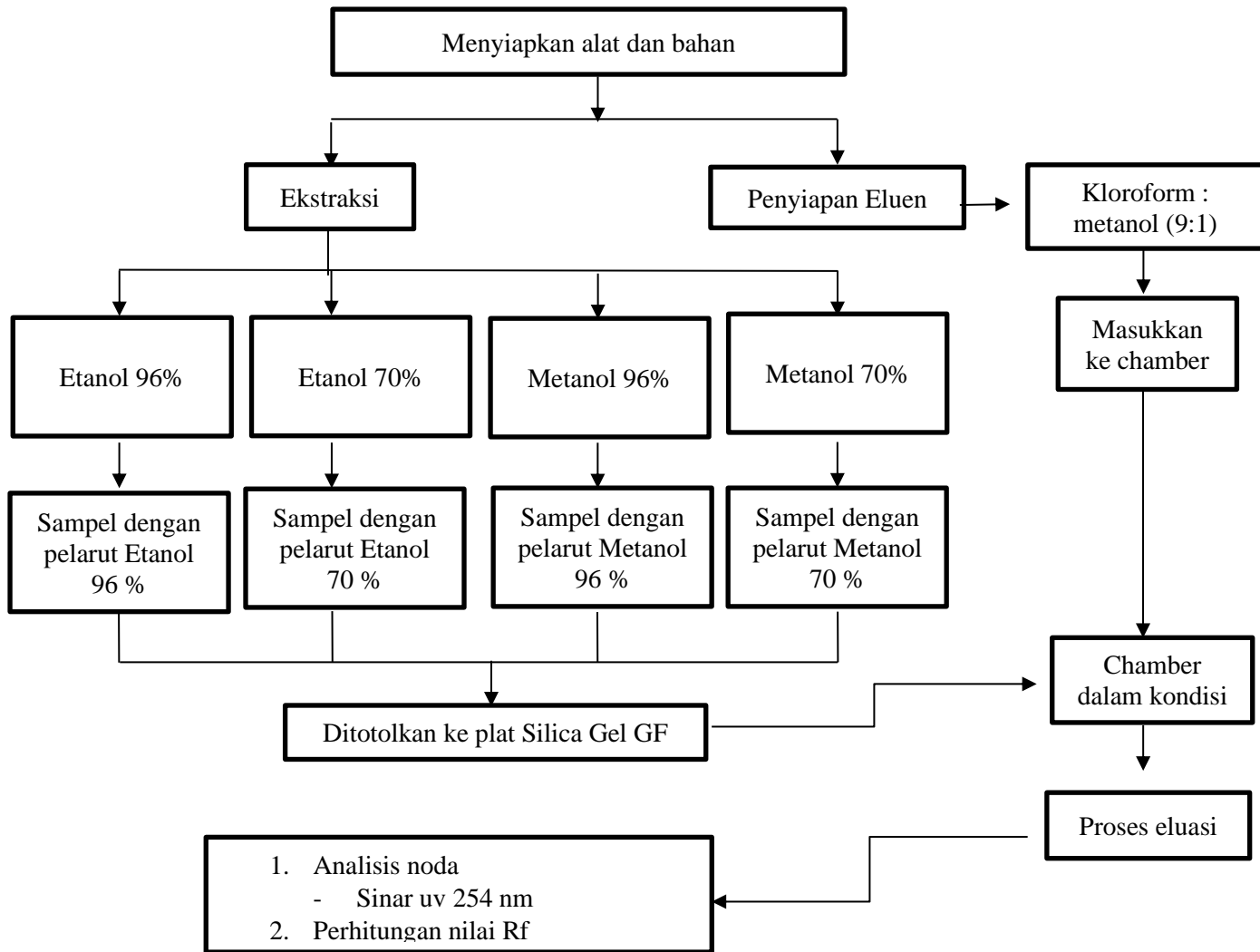
dan di keringkan. Melihat bercak yang tampak di bawah lampu sinar UV pada panjang gelombang 366 nm dan 254 nm. Analisa Rf dan membandingkan nilai Rf standar. Fase gerak yang digunakan kloroform : metanol (9:1) (Maulana, 2018).

3.7 Menginterpretasikan Hasil KLT

3.7.1 Menghitung Nilai Rf

Nilai Rf yaitu jarak yang ditempuh zat terlarut dan jarak yang ditempuh pelarut. Hasil nilai Rf alkaloid biasanya berkisar antara 0,2- 0,8 nilai Rf dipengaruhi oleh eluen karena dipengaruhi oleh tingkat kepolarannya (Kapondo *et al.*, 2020)

3.8 Diagram Alir Prosedur Pembuatan



Gambar 3.1 Diagram Alir Prosedur Kerja