

### Bab III. Metodologi Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan secara eksperimental di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana Bandung. Penelitian ini menggunakan sampel herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) yang diambil dari 5 daerah yang berbeda. Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan diantaranya penyiapan bahan, karakterisasi simplisia, penapisan fitokimia, ekstraksi, pemantauan ekstrak, dan penetapan kadar.

Penyiapan bahan dilakukan dengan pengumpulan bahan, proses determinasi tanaman dan pembuatan simplisia. Pembuatan simplisia dilakukan dengan beberapa tahapan diantaranya sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering dan penyimpanan. Kemudian, dilakukan karakterisasi simplisia. Karakterisasi simplisia terdiri dari penetapan susut pengeringan, penetapan kadar abu total, kadar abu larut air, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol dan penetapan kadar air.

Proses ekstraksi simplisia dilakukan dengan metode soxhletasi dan dengan pelarut etanol 96%. Ekstraksi dilakukan dengan tiga kali pengulangan pada suhu 78°C selama 2 jam. Ekstrak yang didapatkan kemudian dipekatkan dengan *Rotary Evaporator*. Penapisan atau skrining fitokimia dilakukan dengan pengujian terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon dan triterpenoid/steroid. Pemantauan ekstrak dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan fase diam silica gel GF<sub>254</sub> dan fase gerak yang sesuai. Pada penetapan kadar flavonoid dan fenolat total menggunakan metode kolorimetri dengan instrumen spektrofotometri UV-Vis. Penetapan kadar asiatikosida dilakukan menggunakan instrumen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)