

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan Januari 2022 di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana (UBK) yang beralamat di Jl. Soekarno Hatta No.754 Bandung.

3.2. Subjek penelitian

Subjek dalam penelitian ini adalah ekstrak daun dan batang suruhan dengan pelarut n-heksiana, etil asetat, dan etanol 96%.

3.3. Metode pengumpulan Data

Metode yang digunakan untuk pengumpulan data adalah metode eksperimental laboratorium. Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahap mulai dari pengumpulan bahan, penyiapan bahan, determinasi, pengolahan bahan, karakterisasi simplisia, ekstraksi, skrining fitokimia, pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH serta penetapan kadar fenolat dan flavonoid

3.4. Pengumpulan bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth) bagian yang digunakan adalah bagian daun dan batang yang diperoleh dari Sukabumi.

3.5. Determinasi

Tanaman suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth) di determinasi di Laboratorium Herbarium Bandungense Institut Teknologi Bandung.

3.6. Pengolahan bahan

Pengolahan bahan baku simplisia dilakukan beberapa tahap yaitu pengumpulan bahan baku, pencucian, sortasi basah, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pembuatan serbuk dan penyimpanan.

3.7. Karakterisasi simplisia

Pengujian karakteristik simplisia meliputi penetapan kadar air, penetapan kadar abu larut air, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam dan susut pengeringan.

3.8. Ekstraksi

Pada pembuatan ekstrak digunakan cara refluks bertingkat dengan tiga pelarut berbeda kepolaran, yaitu n-heksana, etil asetat, dan etanol 96%. Hal ini bertujuan untuk menarik senyawa yang terkandung sesuai dengan polaritasnya. Ekstraksi dilakukan 3 kali masing-masing kurang lebih 3 jam pada temperatur titik didihnya. Ekstrak yang didapat dipekatkan menggunakan rotary evaporator sampai didapatkan ekstrak kental.

3.9. Skrining fitokimia

Penapisan fitokimia yang dilakukan yaitu pemeriksaan terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, steroid/triterpenoid dan fenol.

3.10. Uji aktivitas DPPH

Uji kualitatif aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara melihat bercak sampel pada KLT, digunakan pembanding vitamin C, DPPH 0,2% digunakan dalam metanol sebagai pengamat bercak. Adanya aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan adanya bintik kuning atau latar belakang ungu yang stabil pada cawan selama 30 menit. Metode reduksi DPPH digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan secara kuantitatif menggunakan spektrofotometri ultraviolet, dimana larutan DPPH dan larutan yang diuji dicampur dengan perbandingan 1:1 dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar sebelum diukur absorbansinya pada 515 nm.

3.11. Penetapan kadar

Penetapan kadar yang dilakukan meliputi penetapan kadar fenolat dan flavonoid

3.11.1. Penetapan kadar fenolat

Metode Folin-Ciocalteu dengan asam galat sebagai standar digunakan untuk menentukan kandungan fenolat total ekstrak. GAE dinyatakan dalam mg/gram ekstrak.

3.11.2. Penetapan kadar flavonoid

Kandungan flavonoid total ditentukan dengan metode Chang, dengan kuer setin sebagai standar, dan hasilnya dinyatakan dalam mg QE/g ekstrak.

3.12. Analisis data

Data yang diperoleh melalui metode eksperimental laboratorium akan dianalisis secara kuantitatif dengan membandingkan daya aktifitas antioksidan (IC_{50}), kadar fenolat (mg GAE/g), kadar dan kadar flavonoid (mg QE/g).