

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Metabolit sekunder adalah sejumlah kecil karbon, energi, dan nitrogen yang mengidentifikasi molekul organik yang kekurangan peroksida persisten selama pertumbuhan dan perkembangan (Croteau dkk., 2000). Molekul organik tersebut mempunyai perbedaan dalam hal struktur kimia, biosintesis, metabolisme, dan fungsi biologis. Identifikasi molekul organik dalam metabolit sekunder dalam tumbuhan dapat dilakukan melalui skrining fitokimia. Pada skrining fitokimia, penggunaan pelarut yang tepat saat proses ekstraksi merupakan hal yang perlu diperhatikan. Pelarut yang digunakan dalam skrining fitokimia berdasarkan kelarutan senyawa dalam metabolit sekunder yang digunakan oleh peneliti. Adanya kelompok senyawa lain pada tanaman tersebut akan mempengaruhi proses pelarutan senyawa yang diinginkan (Endarini, 2016).

Metabolit sekunder tumbuhan memberikan berbagai manfaat bagi manusia, antara lain dapat dimanfaatkan sebagai obat (Julianto, 2018). Cabe jawa (*Piper retrofractum vahl.*) merupakan tanaman yang masuk dalam 10 besar tanaman herbal yang digunakan masyarakat sebagai obat tradisional (Evizal, 2013). Selain itu, Cabe jawa dapat ditambahkan ke dalam susu, kopi, atau teh. Pada buah Cabe jawa mengandung metabolit sekunder meliputi Alkaloid, Polifenol, Amida, Asam karboksilat, Fenilpropanoid, Keton, Hidrokarbon asiklik, Purin, Nukleosida, Glikosida, Glukosa, Dioxol, Fitosterol, dan Minyak atsiri (Faramayuda dkk., 2021). Efek farmakologis pada Cabe jawa bersifat analgetik (anti nyeri), afrodisiak

(perangsang seksual), diaforetik (peluruh keringat), karminatif (meredakan kembung), sedatif (penenang), hematinik (pembentukan sel darah merah), dan antelmintik (pembrantas cacing) (Evizal, 2013).

Penelitian terkait penggunaan pelarut yang berbeda polaritas pada skrining fitokimia telah dilakukan. Penelitian pada ekstraksi *Spirulina platensis* menggunakan pelarut Etil Asetat dan aseton. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak yang diekstraksi dengan pelarut Etil asetat menghasilkan senyawa fenolik, triterpenoid dan steroid, flavonoid dan saponin yang positif. Ekstrak pelarut aseton menghasilkan triterpenoid dan steroid positif, flavonoid dan saponin (Anam dkk., 2014). Penelitian lain terkait penggunaan pelarut yang berbeda polaritas pada skrining fitokimia telah dilakukan. Penelitian ekstrak daun tumbuhan sapu-sapu (*Baeckea frutescens* L.) menggunakan pelarut N-Heksana menghasilkan positif steroid dan Alkaloid (menggunakan pereaksi Mayer). Pelarut Etil Asetat menghasilkan positif fenolik, tanin, flavonoid, dan Alkaloid (menggunakan pereaksi Wagner). Pelarut etanol menghasilkan positif fenolik, tanin, flavonoid, dan terpenoid (Ningsih dkk., 2020).

Penelitian yang akan dilakukan menggunakan metode ekstraksi berupa maserasi. Alasan mengapa metode maserasi digunakan adalah dapat mengekstrak semua metabolit sekunder, metode penggunaan lebih sederhana, dan tidak ada pemanasan, serta bahan alami tidak terurai. Dalam melakukan proses maserasi, simplisia akan direndam dalam pelarut yang dipilih sambil dilakukan sesekali pengadukan (Marjoni, 2016). Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan skrining fitokimia ekstrak Cabe jawa yang meliputi deteksi kandungan Flavonoid,

Saponin, Alkaloid, Glikosida, Tanin, Terpenoid dan Steroid. Pelarut yang digunakan adalah Etanol 96%, Etil Asetat dan N-Heksana dengan metode ekstraksi maserasi.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimanakah perbandingan ekstrak Etanol 96%, N-Heksana, Etil Asetat pada skrining fitokimia Cabe jawa (*Piper retrofractum vahl.*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui perbandingan ekstrak Etanol 96%, N-Heksana, Etil Asetat pada skrining fitokimia Cabe jawa (*Piper retrofractum vahl.*).

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui ekstrak Etanol 96% pada skrining fitokimia Cabe jawa (*Piper retrofractum vahl.*)
2. Mengetahui ekstrak N-Heksana pada skrining fitokimia Cabe jawa (*Piper retrofractum vahl.*)
3. Mengetahui ekstrak Etil Asetat pada skrining fitokimia Cabe jawa (*Piper retrofractum vahl.*)

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Peneliti

Menambah ilmu pengetahuan kepada peneliti dan memahami tentang perbandingan ekstrak ketiga pelarut pada skrining fitokimia Cabe jawa (*Piper retrofractum vahl.*)

1.4.2 Institusi

Memberikan wawasan ilmu pengetahuan pada institusi dan menambah koleksi data penelitian.

1.4.3 Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat tentang manfaat dan kandungan metabolit sekunder buah Cabe jawa (*Piper retrofractum vahl.*)



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Cabe jawa (*Piper retrofractum vahl*)

2.1.1 Klasifikasi



Gambar 2.1 Buah Cabe jawa (*Piper retrofractum vahl*.)

Berdasarkan ilmu taksonomi, klasifikasi tanaman Cabe jawa (*Piper retrofractum vahl*) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Devinisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Kelas : Magnoliopsida/ Dicotylodenae
Ordo : Piperales
Famili/ Suku : Piperaceae
Genus/Marga : *Piper*
Spesies : *Piper retrofractum vahl*

Cabe jawa merupakan tumbuhan asli Indonesia. Tumbuhan ini dapat ditanam di pekarangan, alam liar, ladang, tepi laut, atau hutan pada ketinggian mencapai 600 m di atas permukaan laut. Buah Cabe jawa cocok ditanam pada tanah yang kering berpasir. Budidaya buah Cabe jawa dapat dilakukan dengan cara stek biji dan batang yang telah tua (BPOM RI, 2010).

2.1.2 Morfologi Cabe jawa

Tanaman Cabe jawa merupakan salah satu tanaman merambat. Tanaman ini dapat merambat, melilit, dan memanjat sampai 10 m serta mempunyai cabang tidak teratur. Untuk dapat merambat, buah Cabe jawa membutuhkan kayu yang kokoh. Daun Cabe jawa mempunyai panjang dengan ukuran 8,5-30 cm, lebarnya 3-13 cm, panjang tangkai daun yaitu 0,5-3 cm. Daunnya berbentuk lonjong dengan ujung runcing, pangkal daun berbentuk hati, dan mempunyai tepi daun yang rata. Selain itu, daun tanaman Cabe jawa mempunyai permukaan bagian atas yang halus sedangkan permukaan bagian bawah berbintik-bintik, mempunyai tulang daun di bagian belakang yang berbentuk menyirip, dan setiap helai daun keras bagaikan daging. Daun pelindung berbentuk lonjong hingga elips (BPOM RI, 2010).

Bunga Cabe jawa mempunyai bunga primer dengan panjang batang 0,5-2 cm. Bunga mempunyai kelamin tunggal yang tersusun dalam paku-paku. Bunga ini tumbuh lurus atau sedikit melengkung dengan warna kuning panjang 1-2 mm, mempunyai bulir jantung dengan panjang 2-8 cm, benang sari berjumlah 2-3, telinga betina dengan panjang 1,5-3 cm, dan kepala putik dengan panjang 2-3 mm (BPOM RI, 2010).

Buah Cabe jawa yang berbentuk elips dan silindris memiliki morfologi yang kompleks. Bertangkai panjang yaitu 2–7 cm dengan diameter 4-8 mm. Buahnya mempunyai punggung yang bertekstur tidak beraturan, ujung agak mengecil, keras, berwarna hitam atau hitam-coklat-hijau. Biji pipih, bulat, keras, hitam kecoklatan dengan bau aromatik yang kuat dan rasa pedas (BPOM RI, 2010).

2.1.3 Metabolit Sekunder Cabe jawa

Cabe jawa mengandung metabolit sekunder diantaranya Alkaloid, polifenol, amida, amida glikosida, asam karboksilat, fenilpropanoid glikosida, keton, hidrokarbon asiklik, purin, nukleosida, glikosida, glukosa, dioxol, fitosterol minyak atsiri (Faramayuda dkk., 2021). Efek farmakologis pada Cabe jawa bersifat analgetik, afrodisiak, diaforetik, karminatif, sedatif, hematinik, dan antelmintik (Evizal, 2013).

Pada metabolit sekunder ekstrak Cabe jawa skrining fitokimianya meliputi pemeriksaan kandungan flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, steroid, glikosida dan Alkaloid. Contoh senyawa dari Alkaloid seperti piperin, pipernolanin, guineensin, piperocetadecalin, dan minyak atsiri menurut prosedur yang telah ditetapkan (Patricia, 2021).

1. Alkaloid

Alkaloid merupakan kelompok metabolit sekunder yang paling signifikan pada tanaman. Senyawa ini merupakan sintesis dari sejumlah alkaloid utama dan minor. Alkaloid terutama terdiri dari senyawa basa yang berasa pahit, larut dalam pelarut organik non polar dan mengandung satu atau lebih atom nitrogen (biasanya nitrogen dalam cincin heterosiklik). Senyawa pembangun untuk alkaloid biosintetik

adalah asam amino. Mayoritas alkaloid menyebabkan efek fisiologis baik pada manusia maupun hewan dan memiliki struktur inti yang terdiri dari quinolin, piridin, isokinolin, ataupun tropan (Julianto, 2018).

2. Saponin

Metabolit sekunder lain yang dapat ditemukan pada tumbuhan adalah Saponin. Saponin mempunyai berat molekul tinggi. Senyawa ini memberikan efek pembentukan gelembung yang bertahan lama bila diaduk dengan air. Senyawa ini memiliki sifat ekspektoran dan anti-inflamasi. Umumnya penggunaan saponin dalam kimia organik sering dihindari karena banyak menghasilkan busa, dan banyak triterpen glikosida bersifat amphipolar pada keadaan tertentu yang berperilaku sebagai surfaktan (Julianto, 2018).

3. Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan bahan kimia fenolik yang ditemukan di alam. Dalam struktur kimianya, mempunyai struktur inti berupa C₆-C₃-C₆ yang disertai dengan adanya rantai cabang. Struktur ini terbentuk dari cincin aromatik yang dihubungkan pada 3 atom karbon. Flavonoid bersifat antioksidan. Pigmen Flavonoid tumbuhan berupa warna ungu, merah, biru, dan alkohol berwarna kuning (Julianto, 2018).

4. Tanin

Tanin merupakan zat fenolik yang memiliki rasa astringen, kelat dan pahit. Mereka bergabung dengan zat lain untuk menghasilkan protein, endapan amorf, dan zat organik lain yang mengandung asam amino dan alkaloid. mengandung Asam amino dan Alkaloid. Banyak jenis tanaman mengandung tanin. Zat ini membantu

melindungi tanaman dari herbivora dan predator lainnya. Tanin mempunyai berat 500-300 (ester asam gelat) sampai lebih dari 20.000 (proantosianidin) (Julianto, 2018).

5. Glikosida

Glikosida merupakan metabolit sekunder yang terhubung ke molekul gula melalui hubungan glikosidik. Glikosida sangat penting untuk berfungsinya sistem kehidupan organisme. Beberapa tanaman menyimpan senyawa kimia glikosida yang tidak aktif, yang dapat diaktifkan dengan enzim hidrolase yang mencerna gula untuk menghasilkan senyawa kimia yang siap digunakan. Atom O- (O-glikosida), N-(amina glikosida), dan C- dapat bergabung dengan glikosida (C-glikosida). Glikon, bagian gula glukosida, dan aglikon non-glukosida (Julianto, 2018).

6. Terpenoid

Terpena adalah komponen utama dari minyak terpenin. Steroid adalah turunan dari molekul terpenoid tripene sulane, salah satu nahan penyusun utama biosintesis. Karena senyawa terpen mendapat manfaat dari gugus hidrokarbon, alkohol, aldehida, glikosida, keton, asam karboksilat, eter, dan ester, senyawa terpen disebut ioprenoid (Julianto, 2018).

7. Steroid

Steroid dikenal sebagai terpenoid lipid dengan empat cincin terkait karbon berdasarkan strukturnya. Cukup beragam struktur senyawanya. Perbedaanannya diakibatkan oleh gugus fungsi teroksidasi yang terkait pada cincin dan terjadinya oksidasi karbon (Sumejo dkk., 2013).

2.2 Metode Ekstraksi

2.2.1 Cara Dingin

1. Maserasi

Pada maserasi, proses pelarutan konstituen dari sampel tumbuh dengan cara menyimpan dan membiarkan serbuk kasar sampel tumbuhan bersentuhan dengan pelarut selama waktu tertentu dalam wadah tertutup sambil diaduk. Aplikasi ideal untuk teknik ini adalah dengan senyawa kimia tanaman yang termolabil (Julianto, 2018).

2. Perkolasi

Proses perkolasi sering digunakan untuk menarik komponen aktif dari tumbuhan. Perkolator adalah wadah kecil, ujung terbuka berbentuk kerucut. Sampel tumbuhan padat direndam dengan jumlah pelarut yang sesuai dan ditempatkan dalam wadah tertutup selama kurang lebih 4 jam. Kemudian tutupi permukaan filter sampai sampel benar-benar terendam, ditambahkan pelarut. Sampel dan campuran pelarut kemudian dapat dimaserasi selama 24 jam dalam bejana perkolator tertutup. Saluran perkolator dibuka dan cairan didalamnya dibiarkan menetes secara bertahap. Hingga volume perkolasi kira-kira tiga perempat dari volume yang dibutuhkan, pelarut dapat ditambahkan sesuai kebutuhan (Julianto, 2018).

2.2.2 Cara Panas

1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi pelarut dengan pendinginan balik yang dilakukan selama jangka waktu yang telah ditentukan pada suhu titik didih dengan volume

pelarut yang relatif konstan. Prinsipnya adalah pada suhu tinggi akan terjadi penguapan pelarut kemudian dengan adanya kondensor maka terjadilah pendinginan. Akibatnya timbul uap dan masuk kembali ke bejana reaksi. Agar prosedur ekstraksi dianggap sempurna, residu awal diulang tiga sampai lima kali (Depkes RI, 2000).

2. Sokletasi

Sokletasi diperlukan ketika molekul target memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut dan pengotor tidak larut dalam pelarut. Jika komponen target sangat larut dalam pelarut, dapat dengan mudah dipisahkan dari bahan yang tidak larut menggunakan filter. Sokletasi memiliki keuntungan bahwa prosedur hanya perlu diselesaikan didalam bejana dimana pelarut terus mengalir, menyerap sampel tanaman dan memindahkannya ke labu penerimaan. Selain itu, senyawa termolabil tidak dapat digunakan dengan pendekatan ini karena resiko degradasi kimia akibat pemanasan yang berkepanjangan (Julianto, 2018).

3. Infundasi

Metode infundasi merupakan metode ekstraksi yang sederhana menggunakan air yang dipanaskan hingga 90°C selama 15 menit. Sebagai aturan, infus dibuat untuk mendapatkan bahan aktif yang diperoleh dari komponen tanaman yang dilarutkan dalam air. Ekstrak cair yang diperoleh dari proses ekstraksi ini kemudian diuapkan dalam penangas air hingga ekstrak cair mengental (Wijaya dkk.,2018)

2.3 Pelarut

Pelarut disebut sebagai komponen yang membentuk sebagian besar larutan, sedangkan bahan kimia lainnya disebut sebagai zat terlarut. Agar zat aktif dapat dihilangkan dari simplisia, pelarut ekstraksi harus merupakan pelarut yang optimal untuk zat aktif yang ada dalam sampel simplisia. Hasil akhir ekstraksi adalah ekstrak yang hanya mengandung sedikit bahan aktif yang dibutuhkan (Marjoni, 2016).

2.3.1 Pelarut Polar

Pelarut polar biasanya dapat melarutkan senyawa polar. Pelarut ini memiliki konstanta dielektrik tertinggi dan menarik senyawa polaritas rendah dengan baik. Etanol, methanol, asam asetat dan air adalah contohnya. Pelarut polar dapat mengekstrak alkaloid, senyawa kuartener, karotenoid, komponen fenolik, gula, tanin, asam amino dan glikosida (Khotimah, 2016).

2.3.2 Pelarut Non Polar

Pelarut non polar umumnya dapat melarutkan senyawa kovalen nonpolar atau bisa disebut juga dengan pelarut organik. Pelarut ini tidak larut dalam air. Contohnya benzena, eter, Heksanaa, dan toluena. Komponen kimia seperti lipid yang mudah menguap, lilin, dan minyak dapat diekstraksi menggunakan pelarut non-polar (Khotimah, 2016).

2.3.3 Pelarut Semi Polar

Pelarut semi polar dapat menarik molekul polar dan non-polar karena toksisitasnya yang rendah. Contohnya termasuk butanol, etil asetat, metil klorida.

Alkaloid, fenol, terpenoid, dan glikosida semuanya dapat diekstraksi menggunakan pelarut semi-polar (Khotimah, 2016).

2.4 Reagen Uji Skrining Fitokimia

Secara kualitatif untuk menguji skrining fitokimia, beberapa cara standart dapat digunakan untuk mengetahui gugus fungsi yang biasanya disebut reagen. Fungsi dari reagen adalah untuk mengetahui senyawa Alkaloid yaitu dengan uji Mayer, uji Wagner, uji hager dan uji dragendorff. Pada reagen Mayer senyawa Alkaloid dapat dilihat dengan hasil warna putih atau kuning keruh. Reagen Wagner senyawa Alkaloid dapat dilihat dengan hasil warna coklat kemerahan menunjukan hasil positif Alkaloid. Reagen hager senyawa Alkaloid dapat dilihat dengan hasil warna kuning menunjukan positif Alkaloid dan reagen Dragendorff senyawa Alkaloid memberikan hasil warna kuning kecoklatan dan warna kuning dari pereaksi (Julianto, 2018).

Senyawa flavonoid dapat diuji menggunakan reagen alkali dengan penambahan NaOH yang ditujukan dengan perubahan warna kuning pekat yang menandakan adanya senyawa flavonoid. Senyawa terpenoid dapat dikatakan positif apabila reagen Libermann-buchard dengan vanilin atau asam sulfat membentuk warna merah ungu mengindikasikan terpenoid. Sedangkan senyawa terpenoid dan steroid menunjukan warna yang berubah menjadi hijau pekat dengan penambahan asetat anhidrat membentuk cincin berwarna coklat pada batas larutan ditambahkan dengan H₂SO₄ pekat. Senyawa saponin menunjukan terbentuknya busa setelah pengocokan dengan ekstrak yang dilarutkan dalam air panas (Julianto, 2018).

2.5 Skrining Fitokimia

2.5.1 Alkaloid

Skrining fitokimia golongan Alkaloid dapat dilakukan pada tanaman segar. Kloroform amoniak digunakan untuk mengekstraksi 5-10 gram bahan tanaman segar, yang kemudian disaring. Selain itu, filtrat dicampur dengan 0,5-1 ml asam sulfat 2N untuk membuat dua lapisan. Tiga tabung reaksi (I, II, III) diisi dengan lapisan asam paling atas dengan menggunakan pipet. Tabung reaksi I, II, dan III ditetaskan masing-masing dengan pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, pereaksi Wagner sejumlah 2 tetes untuk setiap tabung. Hasil positif terdapat Alkaloid jika terbentuk endapan putih pada tabung reaksi I. Pada tabung reaksi II dan III terbentuk endapan coklat kemerahan (Endarini, 2016).

Skrining fitokimia pada Alkaloid juga dapat dilakukan pada ekstrak. Ekstrak tanaman ditimbang sejumlah 1 gram kemudian ditambahkan pelarut sejumlah 100 mL yang digunakan sebagai larutan uji. Ambil larutan uji sebanyak 1 mL, ditambah 10 mL Amoniak-Kloroform, 10 tetes H_2SO_4 2N lalu dikocok hingga terbentuk ke dalam 3 tabung reaksi (1, 2, dan 3). Pada setiap tabung reaksi ditetaskan sejumlah masing-masing 3 tetes reagen Mayer, Dragendorff, dan Wagner. Pada tabung reaksi 1 akan terbentuk endapan warna kuning jika positif Alkaloid. Tabung reaksi 2 yang ditetaskan dengan Dragendorff akan terbentuk endapan berwarna orange atau kuning (Safitri & Syafitri, 2022).

2.5.2 Flavonoid

Skrining fitokimia metabolit sekunder Flavonoid dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi Wilstater/Sianidin. Berat sampel yang digunakan yaitu 5

gram, kemudian dilakukan ekstraksi menggunakan N-Heksana atau Petroluem Eter. Tahapan selanjutnya adalah penyaringan filtrat dan residu. Dilakukan penguapan pelarut hingga didapatkan ekstrak kental. Proses selanjutnya dilakukan penambahan 30 mL etanol atau metanol. Diambil sejumlah 2 mL ekstrak etanol atau metanol dan ditambahkan dengan 0,5 mL HCl pekat dan logam Magnesium. Ekstrak mengandung Flavonoid jika terjadi perubahan warna menjadi merah, jingga, atau hijau (Endarini, 2016).

2.5.3 Tanin

Uji FeCl_3 1% merupakan salah satu uji yang dapat digunakan untuk identifikasi adanya Tanin. Ekstrak kental yang diperoleh selanjutnya ditambahkan dengan air suling sejumlah 2 mL dan diberikan FeCl_3 1% sejumlah 1-2 tetes. Timbulnya warna hijau tua atau biru kehijauan menandakan adanya tanin. Uji lain yang dapat digunakan untuk golongan ini adalah uji Gelatin. Ekstrak positif mengandung Tanin jika terbentuk endapan putih setelah ditambahkan larutan gelatin 1% dan NaCl 10% (Endarini, 2016).

2.5.4 Saponin

Uji Saponin dapat dilakukan dengan membuat larutan dari 1 gram ekstrak kental yang ditambahkan pelarut sejumlah 100 mL (larutan induk). Diambil sejumlah 1 mL larutan induk dan ditambahkan 5 mL air suling. Lakukan pengocokan dengan kuat. Hasil positif terdapat Saponin jika terbentuk buih atau busa dengan tinggi 1-10 (Safitri & Syafitri, 2022).

2.5.5 Terpenoid

Reagen Liebermann-Buchard merupakan reagen yang digunakan untuk skrining fitokimia golongan Terpenoid. Ekstrak yang dihasilkan ditambahkan dengan Kloroform sebanyak 1 mL kemudian lakukan penyaringan. Ambil filtratnya dan ditambahkan dengan Asam Asetat Anhidrat sebanyak 1 mL. Selanjutnya dididihkan kemudian dinginkan. Tambahkan H_2SO_4 pekat sebanyak 1 tetes. Adanya cincin yang berwarna coklat menunjukkan positif Terpenoid (pitosterol) (Julianto, 2018). Golongan Terpenoid dapat juga diidentifikasi menggunakan H_2SO_4 pekat dan Kloroform masing-masing sejumlah 3 tetes. Adanya warna orange atau ungu menunjukkan adanya Terpenoid (Safitri & Syafitri, 2022).

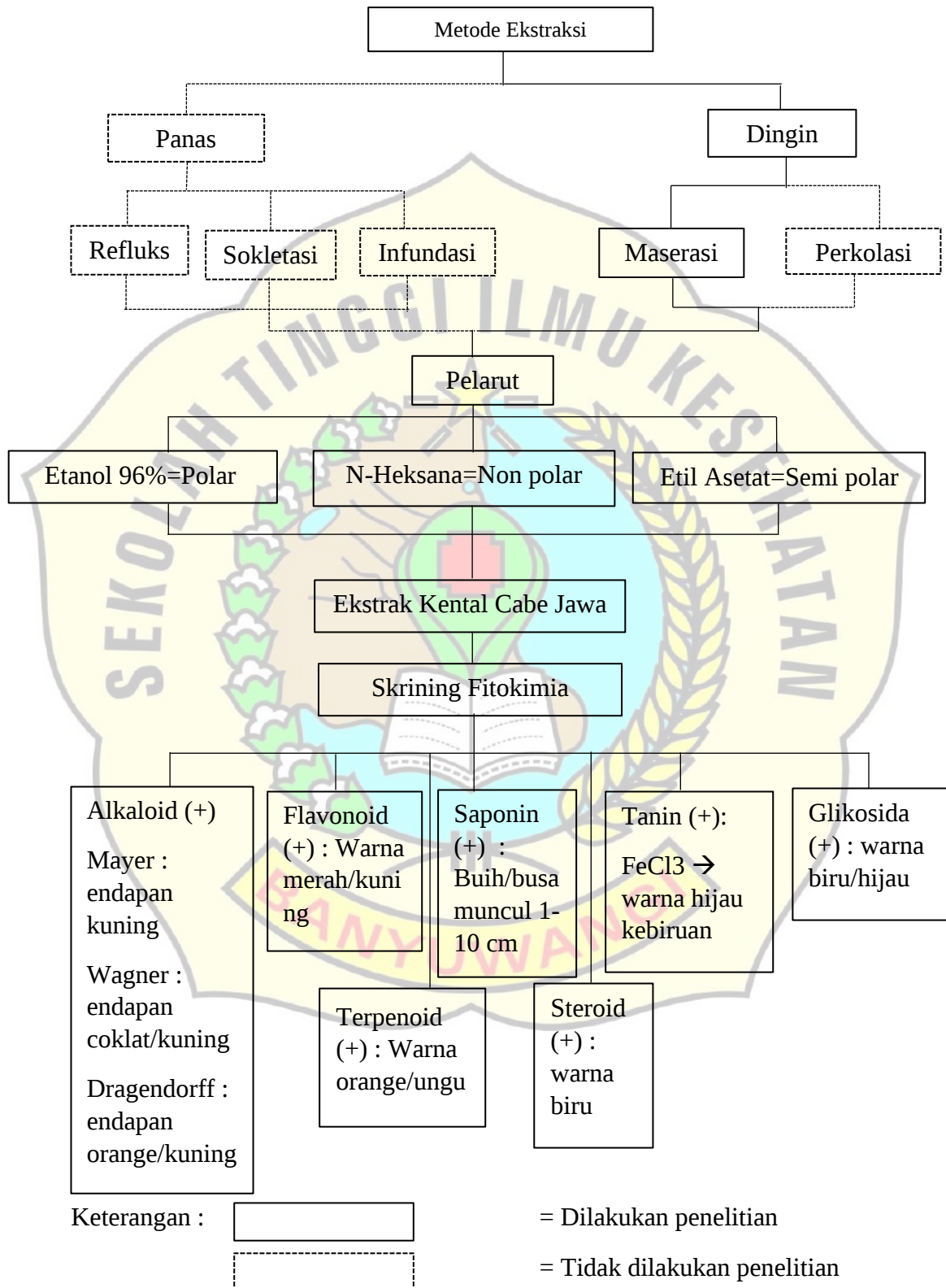
2.5.6 Steroid

Uji Steroid dilakukan dengan membuat terlebih dahulu larutan induk yaitu 1 gram ekstrak ditambahkan dengan 100 mL pelarut. Diambil sebanyak 1 mL dan ditambahkan Kloroform dan Asam Asetat Anhidrat sejumlah masing-masing 3 tetes. Warna biru menunjukkan adanya Steroid (Safitri & Syafitri, 2022).

2.5.7 Glikosida

Uji Glikosida dilakukan menambahkan Asam Asetat Anhidrat sebanyak 5 mL dan H_2SO_4 pekat sejumlah 10 tetes pada 0,1 mL larutan ekstrak. Terbentuk warna hijau atau biru menandakan adanya golongan Glikosida (reaksi Libermann-burchard) (DepKes RI, 1977).

2.6 Kerangka Konsep



BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorium.

3.2 Waktu dan Tempat

3.2.1 Waktu

Penelitian dilakukan pada bulan April – Juni 2023.

3.2.2 Tempat

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bahan Alam STIKES Banyuwangi. Uji Determinasi dilakukan di UNIBA.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Beaker glass, toples kaca, kertas saring, batang pengaduk, blender, pipet tetes, neraca analitik, gelas ukur, rak tabung, tabung reaksi, erlenmeyer, cawan porselen, *water bath*, *Mesh No. 40*.

3.3.2 Bahan

Cabe jawa (*Piper retrofractum vahl.*) yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari Dusun Sukopuro - Kecamatan Srono - Kabupaten Banyuwangi, dan bahan aquadest, Etanol 96%, N-Heksana, Etil Asetat, FeCl_3 1%, H_2SO_4 2N, HCL 2N, NaOH 10%, Asam Sulfat pekat, Asam Asetat Anhidrat, Kloroform, Amonia, pereaksi Wagner, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Maserasi

1. Timbang Buah Cabe jawa sejumlah 4,2 kg. Pemilihan Cabe jawa yang digunakan dalam penelitian adalah cabe jawa yang telah matang yang ditandai dengan warna orange hingga kemerahan dan bertekstur keras. Dilakukan pencucian dan penyortiran buah Cabe jawa. Sebelum dikeringkan maka dilakukan perajangan. Pengeringan dilakukan dengan cara menggunakan oven dengan suhu $< 60^{\circ}\text{C}$. Simplisia kering dihaluskan menggunakan blender untuk selanjutnya diayak dengan *Mesh* No. 40. Timbang bobot total Cabe jawa yang telah diayak.
2. Cabe Jawa yang telah ditimbang, dibagi menjadi 3 bagian menggunakan timbangan. Masing-masing Cabe Jawa 140 gram yang telah ditimbang dimasukkan kedalam wadah tertutup dan bersih. Berikan label pada masing-masing wadah (Etanol 96%, n-Heksana, dan Etil Asetat).
3. Tambahkan sejumlah 420 ml pelarut etanol 96% ke dalam wadah. Tutup wadah dengan alumunium foil kemudian diamkan hingga 24 jam. Lakukan pengadukan sesekali.
4. Pisahkan antara residu dan filtrat dengan kertas saring.
5. Lakukan remaserasi sebanyak 2 kali. Filtrat dikumpulkan menjadi satu.
6. Filtrat yang diperoleh selanjutnya dipekatkan menggunakan *water bath* pada suhu 60°C .
7. Simpan ekstrak pekat pada wadah bersih dan tertutup rapat.

8. Lakukan hal yang sama pada poin 3 hingga 7 untuk pelarut n-Heksana dan Etil Asetat.

3.4.2 Uji Fitokimia Metabolit Sekunder

Pembuatan larutan uji yaitu dengan menimbang 1 gram ekstrak kental ditambahkan dengan 10 ml pelarut Etanol 96%. Pembuatan larutan induk juga dilakukan untuk pelarut n-Heksana dan Etil Asetat.

1. Alkaloid

Timbang sebanyak 0,5 gram ekstrak kental. Tambahkan Kloroform sejumlah 2 mL, Amoniak sejumlah 10 mL, dan H_2SO_4 2N sejumlah 10 tetes. Lakukan pengocokan dan diamkan hingga terbentuk 2 lapisan. Pindahkan lapisan H_2SO_4 ke dalam 3 tabung reaksi (I, II, III) sejumlah masing-masing 2,5 mL. Tambahkan ke dalam tabung reaksi I, II, dan III masing-masing pereaksi Mayer, Dragendorff, dan Wagner sejumlah 3 tetes pada setiap tabung. Adanya Alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih jika direaksikan dengan Mayer. Endapan merah atau jingga jika direaksikan dengan Dragendorff dan endapan coklat jika direaksikan dengan Wagner (Ningsih dkk., 2020). Skrining fitokimia Alkaloid dilakukan pengulangan 3 kali.

2. Saponin

Ditimbang sebanyak 1 gram ekstrak. Dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 ml air panas. Dinginkan dan lakukan pengocokan kuat selama 10 detik. Jika terbentuk busa atau buih setinggi 1-10 cm selama minimal 10 menit dan busa atau buih tetap ada setelah ditambahkan HCl 2N sebanyak 1 tetes

menunjukkan adanya golongan Saponin (Baharuddin, 2017). Skrining fitokimia Saponin dilakukan 3 kali.

3. Flavonoid

Diambil larutan induk sebanyak 1 mL larutan uji dan masukkan ke dalam tabung reaksi ditambah 2 tetes pereaksi NaOH 10%, reaksi positif jika terjadi perubahan warna orange/jingga (Ikalinus dkk.,2015). Skrining fitokimia Flavonoid dilakukan 3 kali.

4. Tanin

Timbang ekstrak sebanyak 1 gram. Dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan air panas sejumlah 10 mL. Dididihkan selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan FeCl_3 1% sejumlah 3-4 tetes. Perubahan warna menjadi hijau biru (hijau-hitam) menandakan adanya Tanin Katekol, dan warna biru hitam menandakan adanya Tanin Pirogalol (Baharuddin, 2017). Skrining fitokimia Tanin dilakukan 3 kali.

5. Terpenoid

Diambil larutan induk sejumlah 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditetaskan Kloroform sejumlah 3 tetes dan H_2SO_4 pekat sejumlah 3 tetes. Terpenoid positif menunjukkan warna orange atau ungu (Safitri & Syafitri, 2022). Skrining fitokimia Terpenoid dilakukan 3 kali.

6. Steroid

Diambil larutan induk sebanyak 1 ml larutan uji dan masukkan ke dalam tabung reaksi. Dimasukkan Kloroform sejumlah 3 tetes dan Asam Asetat Anhidrat sejumlah 3 tetes. Kemudian ditambahkan lagi H_2SO_4 pekat sejumlah 3 tetes.

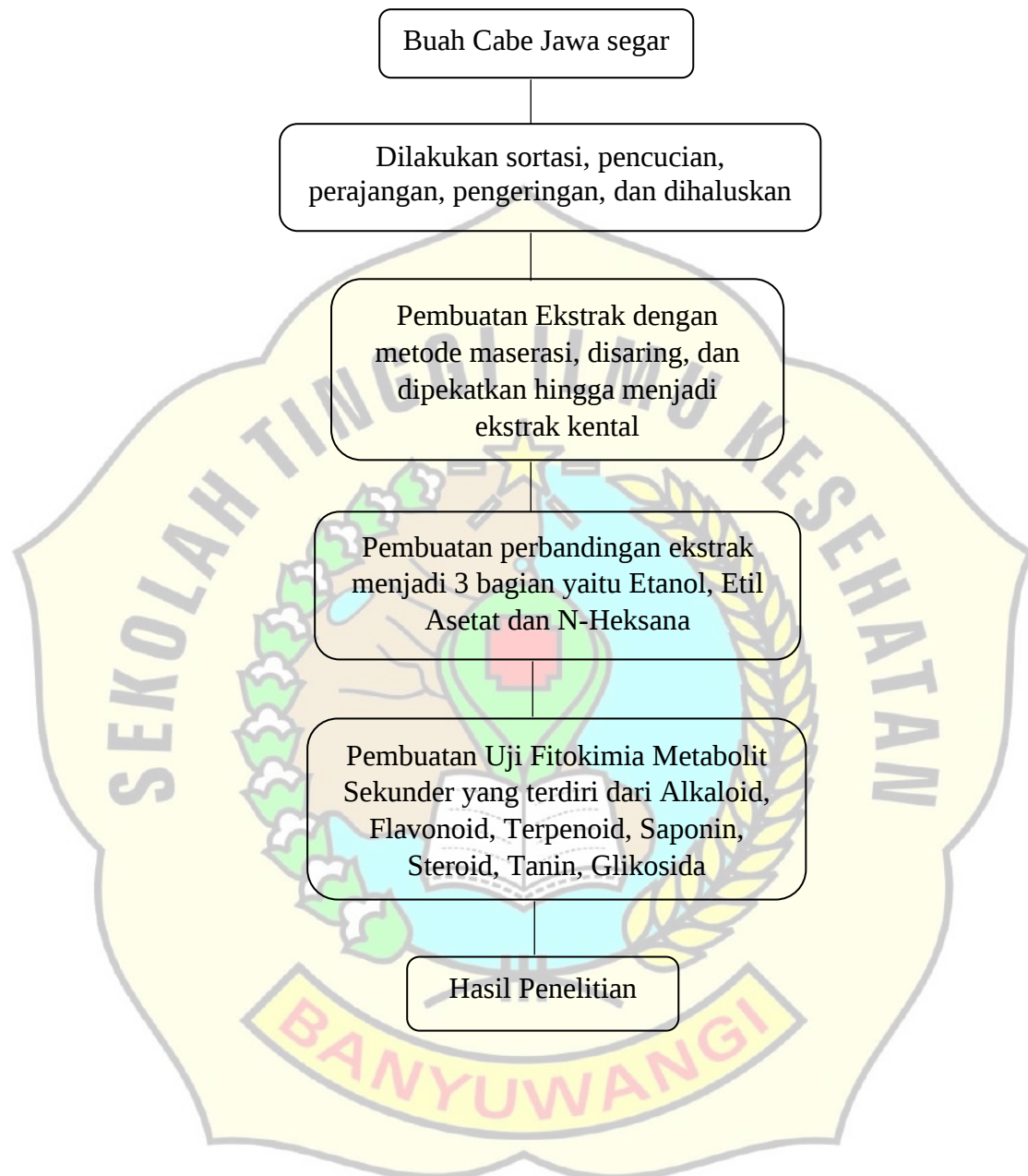
Adanya steroid dengan terbentuknya warna biru (Safitri & Syafitri, 2022). Skrining fitokimia Steroid dilakukan 3 kali.

7. Glikosida

Dimasukkan 0,1 ml larutan uji ditabung reaksi, lalu tambahkan 5 ml asam asetat anhidrat pekat, dan 10 tetes asam sulfat pekat. Adanya Glikosida menunjukkan warna biru atau hijau (DepKes RI, 1977). Skrining fitokimia Glikosida dilakukan 3 kali.



3.5 Alur Penelitian



3.6 Analisis Data

Penelitian data dilakukan menggunakan perbandingan ekstrak dengan pelarut Etanol 96%, n-Heksana, Etil Asetat pada skrining fitokimia Cabe jawa (*Piper retrofractum vahl.*) menggunakan metode maserasi.

Tabel 3.1 Data hasil uji skrining fitokimia

No	Senyawa	Hasil Pengamatan								
		Etanol 96%			N-Heksana			Etil Asetat		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III
1.	Alkaloid									
	Mayer									
	Wagner									
	Dragendorf									
2.	Flavonoid									
3.	Saponin									
4.	Tanin									
5.	Terpenoid									
6.	Steroid									
7.	Glikosida									

Keterangan :

I : Pengulangan pertama

II : Pengulangan ke dua

III : Pengulangan ke tiga