

BAB II

METODOLOGI PENELITIAN

Tahapan-tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi pengumpulan bahan, determinasi tumbuhan daun sirih merah, pemeriksaan mikroskopik dan makroskopik pada tumbuhan dan serbuk simplisia, penapisan fitokimia simplisia, evaluasi parameter standar simplisia, ekstraksi, fraksinasi, isolasi dan pemurnian serta karakterisasi isolat.

Terhadap bahan segar dilakukan determinasi dan pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik. Kemudian dibuat simplisia dengan tahapan sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, serta penggilingan hingga didapatkan serbuk simplisia.

Determinasi dilakukan di Herbarium Bogoriense, Pusat penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong. untuk mengetahui kebenaran bahan dari daun sirih merah.

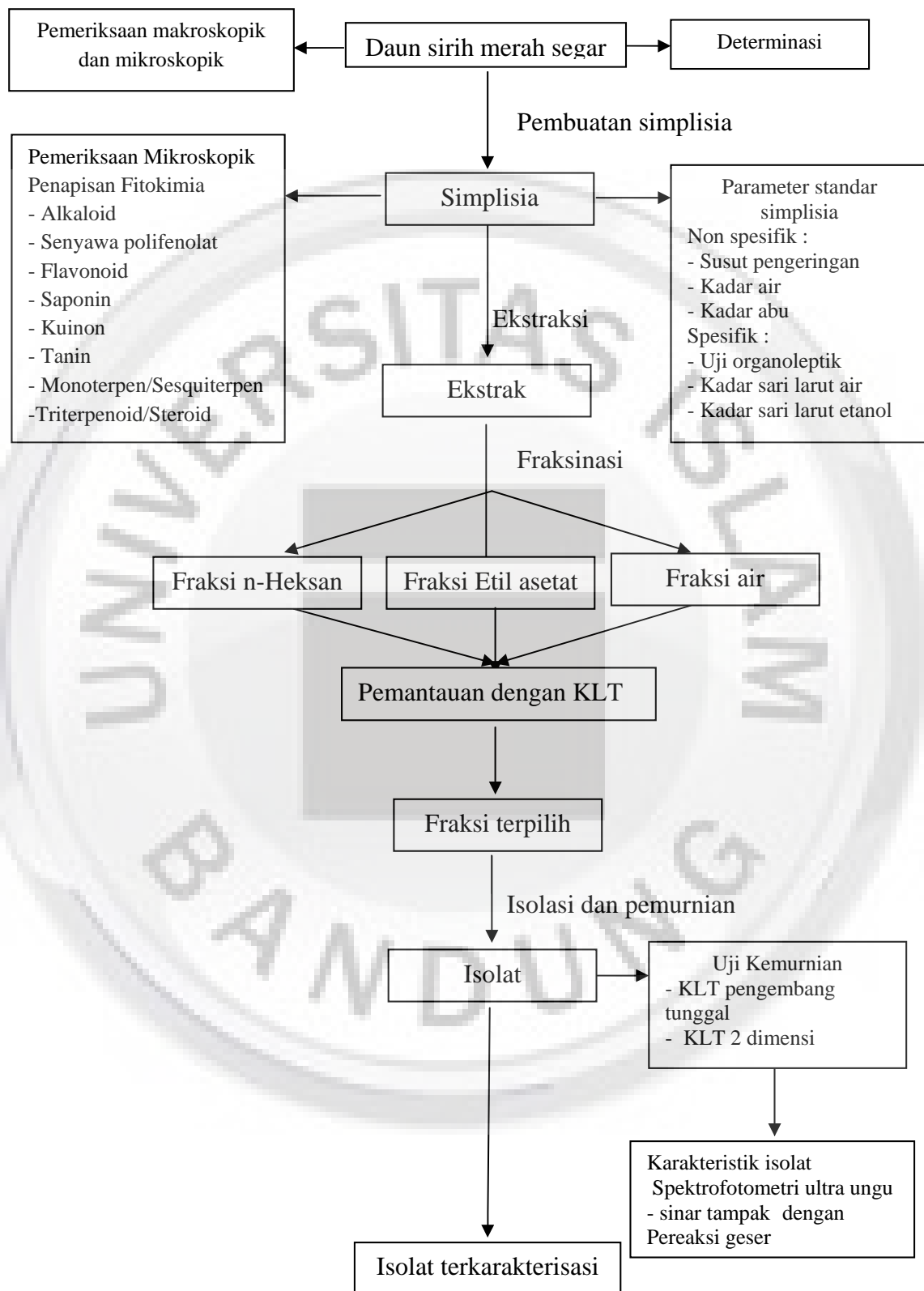
Terhadap simplisia dilakukan penapisan fitokimia untuk mengidentifikasi golongan senyawa kimia yang terdapat di dalam tumbuhan. Pengerjaan meliputi alkaloid, flavonoid, uji polifenolat, tanin, kuinon, monoterpen/sesquiterpen, triterpenoid/steroid, saponin.

Evaluasi parameter standar simplisia meliputi parameter non spesifik dan parameter spesifik. Parameter standar non spesifik meliputi susut pengeringan, kadar air, dan kadar abu, sedangkan parameter spesifik meliputi uji organoleptik, kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol.

Ekstraksi dilakukan sebagai tahap awal dalam isolasi senyawa flavonoid dari daun sirih merah. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu ekstraksi dingin secara maserasi menggunakan pelarut etanol 95 %. Selanjutnya dilakukan fraksinasi menggunakan metode ekstraksi cair-cair (ECC) dengan menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan air (Gritter et al, 1991). Terhadap ekstrak dan fraksi dilakukan pemantauan dengan KLT. Terhadap fraksi terpilih dilakukan isolasi lebih lanjut untuk mendapatkan isolat murni.

Terhadap isolat dilakukan uji kemurnian dengan metode KLT pengembang tunggal dan KLT dua dimensi. Terhadap isolat murni dilakukan karakterisasi isolat menggunakan Spektrofotometri ultra ungu - sinar tampak dengan pereaksi geser.

Diagram alir penelitian secara keseluruhan dapat dilihat pada **Gambar II.1.**



Gambar II.1 bagan alir penelitian