

## **BAB II**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

Penelitian mengenai perbandingan kadar flavonoid total dan uji aktivitas antioksidan herba bayam hijau (*Amaranthus hybridus* L.) dan herba bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu penyiapan alat dan bahan, penapisan fitokimia, pengukuran parameter standar, ekstraksi, fraksinasi, pemantauan KLT, penetapan kadar flavonoid total, serta pengujian aktivitas antioksidan.

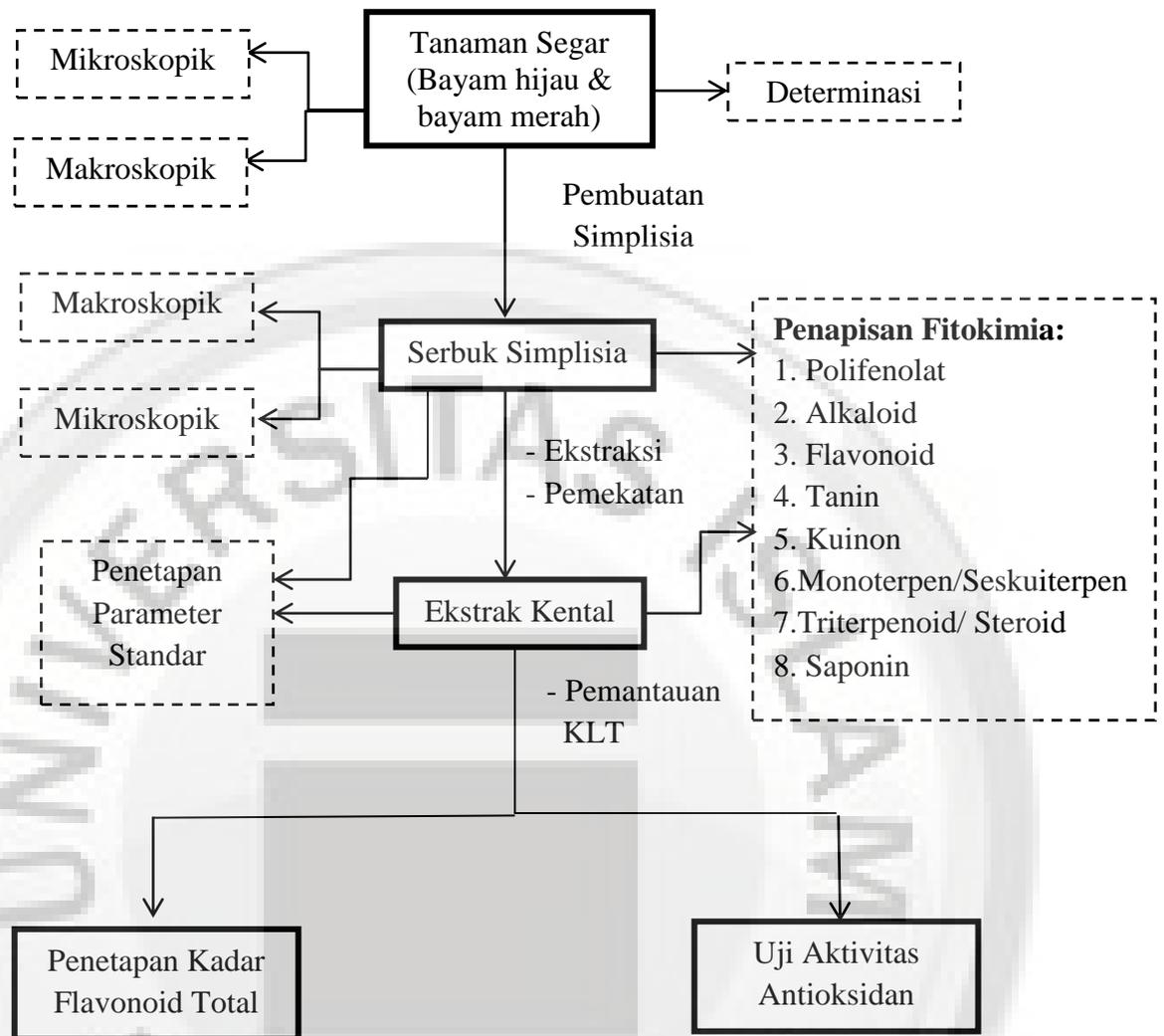
Bahan segar bayam hijau dan bayam merah yang diperoleh dari Perumahan Cijambe Indah, Kecamatan Ujungberung, Kota Bandung dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor. Determinasi dilakukan untuk mengetahui kebenaran bahan. Terhadap bahan segar dilakukan sortasi basah, pencucian, perajangan, dan pengeringan dengan cara diangin-anginkan hingga menjadi simplisia kering, kemudian dihaluskan sehingga diperoleh serbuk simplisia.

Pemeriksaan mikroskopik, pengujian parameter standar baik non spesifik maupun spesifik dan penapisan fitokimia dilakukan pada serbuk simplisia. Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa polifenolat, alkaloid, flavonoid, tanin, kuinon, monoterpen/sesquiterpen, triterpenoid/steroid, serta saponin.

Tahap selanjutnya adalah ekstraksi, pada penelitian ini ekstraksi dilakukan dengan cara dingin yaitu maserasi menggunakan pelarut etanol 95%. Ekstrak cair

yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator*, lalu dilakukan penapisan fitokimia dan pengujian parameter standar spesifik dan parameter non-spesifik. Terhadap ekstrak pekat dilakukan fraksinasi menggunakan metode ekstraksi cair-cair, yaitu menggunakan pelarut non-polar, semi polar dan polar. Terhadap ekstrak dan fraksi yang diperoleh dilakukan pemantauan menggunakan KLT dengan senyawa pembanding kuersetin.

Pengukuran kadar flavonoid total ekstrak dihitung dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dengan baku pembanding kuersetin. Pengujian aktivitas antioksidan herba bayam hijau dan bayam merah dilakukan dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH untuk memperoleh nilai persen pengujian kapasitas antioksidan  $IC_{50}$  dengan pembanding standar vitamin C. Pengujian ini diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 516 nm.



**Gambar II.1** Bagan alir penelitian