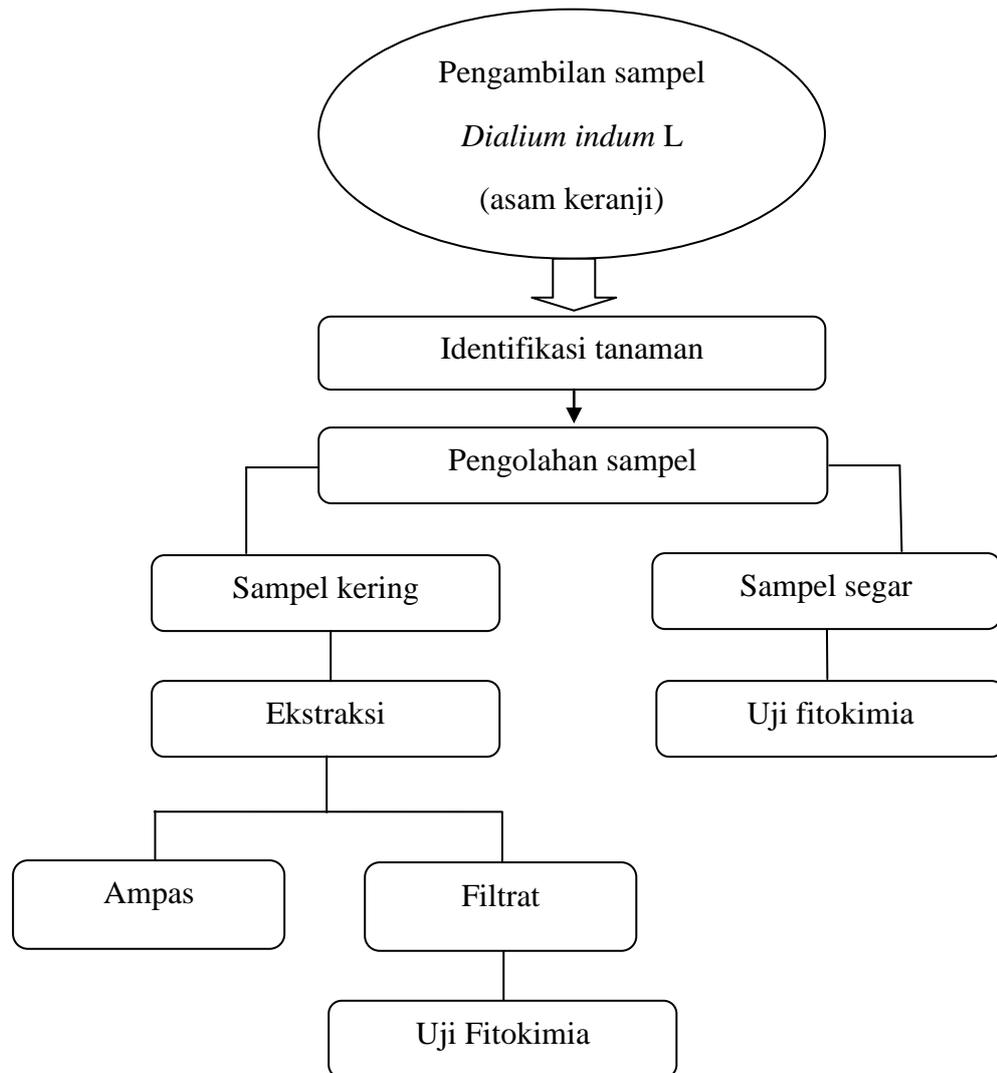


BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Alur Penelitian



3.2 Pengambilan sampel

Pengambilan sampel dilakukan di daerah Pulau Laut, Kepulauan Riau Kabupaten Natuna.

3.3 Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman dilakukan untuk mengetahui tanaman yang akan diteliti benar sesuai dengan spesies yang dituju. Identifikasi tanaman dilaksanakan di Laboratorium Herbarium Cibinong.

3.4 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Universitas Tarumanagara.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Ekstraksi

Bahan-bahan:

- Kloroform

Alat-alat yang digunakan:

- Gelas ukur
- Tabung reaksi
- Pipet tetes
- Pipet volumetrik
- Erlenmeyer
- Corong kaca
- Gelas kimia
- Alumunium foil
- Alat maserasi
- Rotary vacuum evaporator

3.5.2 Uji fitokimia

Bahan-bahan:

- Pereaksi Meyer
- Pereaksi Dragendorf
- Kloroform
- H₂SO₄ 2N
- Amoniak
- Anhidrat asetat

- H₂SO₄ pekat
- HCl pekat
- Serbuk magnesium
- NaOH 1N
- Kapas
- Etanol
- Larutan FeCl₃ 1%
- Eter

Alat-alat yang digunakan:

- Gelas ukur
- Tabung reaksi
- Pipet tetes
- Plat tetes
- Pipet volumetrik
- Lumpang porselen

3.6 Prosedur Kerja

1. Pengolahan sampel
 - a. Bahan tanaman diperoleh dari daerah Pulau Laut, Kabupaten Natuna.
 - b. Dilakukan pencucian yang bertujuan untuk membersihkan sampel dari sisa-sisa tanah/kotoran yang masih melekat dan memisahkannya dengan bagian tumbuhan yang tidak diinginkan.
 - c. Sampel biji dicuci kemudian dikering anginkan selama 1 minggu, lalu ditumbuk dan diblender hingga diperoleh serbuk halus.
 - d. Sampel siap digunakan.

2. Proses Ekstraksi

Teknik ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini dengan cara maserasi. Sebanyak 253 g serbuk biji buah keranji direndam dalam pelarut kloroform secukupnya, didiamkan dan diaduk setiap harinya. kemudian disaring sehingga diperoleh filtrat. Perlakuan tersebut diulang 3 kali sampai uji negatif terhadap senyawa yang diekstrak. Hasil yang didapatkan lalu dievaporasi untuk mendapatkan hasil ekstrak kental.

3. Uji Fitokimia

a. Alkaloid

Sebanyak 4 gram sampel digerus dalam lumpang porselen lalu dilarutkan ke dalam 20 ml kloroform dan ditambahkan 1 ml amoniak. Sampel disaring menggunakan kapas, kemudian filtrat diambil dengan pipet lalu masukkan filtrat ke dalam tabung reaksi dan tambahkan 10 tetes H_2SO_4 2N. Kocok $\frac{1}{2}$ menit dan diamkan hingga terbentuk 2 lapisan, ambil lapisan atas kemudian dibagi ke dalam 3 tabung reaksi. Pada tabung pertama, tambahkan 2 tetes pereaksi Meyer. Hasil uji dinyatakan positif bila dengan pereaksi Meyer terbentuk endapan putih. Pada tabung kedua, tambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff. Hasil uji positif pada pereaksi Dragendorff bila terbentuk endapan jingga¹⁶. Pada tabung ketiga, tambahkan 2 tetes aquades sebagai tabung kontrol. Pada pengujian ini dapat pula digunakan pereaksi wagner dan hasilnya akan terbentuk endapan berwarna coklat.

Untuk uji fitokimia sampel hasil ekstraksi, ke dalam ekstrak yang sudah diencerkan dengan kloroform ditambahkan 2 tetes amoniak, dikocok dan diambil lapisan bawah pindahkan ke tabung reaksi lain. Kepada lapisan yang diambil tambahkan 1 ml H_2SO_4 2N, dikocok dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan kembali. Diambil lapisan atasnya dan dibagi ke dalam dua tabung reaksi setelah itu direaksikan dengan pereaksi Meyer dan pereaksi

Dragendorff. Hasil uji positif terhadap alkaloid bila terbentuk endapan putih atau jingga.

b. Steroid/triterpenoid

Sebanyak 4 gram sampel digerus, tambahkan 10 ml kloroform dan digerus lagi sampai halus. Sampel disaring menggunakan kapas diujung pipet, kemudian diteteskan ke dalam 3 lobang plat tetes dan biarkan hingga kering. Setelah kering tambahkan asam asetat anhidrat kemudian diaduk dengan batang pengaduk. Pada lobang 1 dan 2 tambahkan H_2SO_4 pekat sebanyak 2 tetes. Terbentuknya larutan berwarna merah untuk pertama kali kemudian berubah menjadi ungu menunjukkan reaksi positif terhadap terpenoid. Bila terbentuk warna hijau lalu berubah menjadi biru menunjukkan reaksi positif terhadap steroid.

Untuk uji fitokimia sampel hasil ekstraksi, ke dalam ekstrak yang sudah diencerkan dengan kloroform diteteskan pada plat tetes lalu dikeringkan. Selanjutnya tambahkan asam asetat anhidrat, diaduk dan teteskan H_2SO_4 pekat 3 tetes. Terbentuknya warna merah-ungu menunjukkan adanya terpenoid sedangkan warna hijau-biru menunjukkan adanya steroid. Bila terbentuk cincin warna merah-biru-ungu maka uji positif terhadap steroid dan terpenoid.

c. Flavonoid

Sebanyak 4 gram sampel digerus, tambahkan 10 ml metanol digerus lagi sampai halus. Sampel disaring menggunakan kapas diujung pipet, pindahkan ke tabung lain kemudian tambahkan 2 ml NaOH 10% dan dikocok 2 menit sehingga terbentuk dua lapisan. Ambil lapisan bawah tambahkan 5 tetes HCl 2N dan eter kemudian kocok 2 menit. Setelah didiamkan ambil lapisan atas dan tambahkan etanol pada tabung lain. Kemudian tambahkan serbuk

magnesium 0,1 g dan 1 ml HCl pekat. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga menunjukkan uji positif terhadap flavonoid.

Untuk uji fitokimia sampel hasil ekstraksi, ke dalam ekstrak ditambahkan 1 ml eter, dikocok dan diamkan hingga terbentuk dua lapisan. Ambil lapisan atas, pindahkan ke tabung lain dan tambahkan NaOH 1 N lalu kocok. Kemudian tambahkan 1 ml HCl pekat sampai warna hilang dan tambahkan 1 ml amil alkohol dikocok lagi setelah itu diberikan sedikit bubuk magnesium serta HCl pekat. Terbentuknya warna merah kuning atau jingga menunjukkan adanya flavonoid.

d. Saponin

Sebanyak 4 gram sampel yang sudah digerus halus dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan tambahkan 5 ml aquades lalu kocok dengan kencang selama 1 menit. Bila pada hasil uji terdapat busa menunjukkan reaksi positif terhadap saponin.

e. Fenolik/Tanin

Sebanyak 4 gram sampel yang telah digerus ditambahkan 10 ml metanol lalu disaring dengan menggunakan pipet dan kapas. Masukkan ke dalam 2 tabung. Tabung pertama diberikan 3 tetes FeCl_3 1% dan tabung kedua sebagai kontrol. Terbentuknya warna hijau atau biru menunjukkan adanya senyawa fenolik dalam bahan.

Untuk uji fitokimia hasil sampel ekstraksi, ke dalam ekstrak ditambahkan etanol dan larutan FeCl_3 1%. Terbentuknya warna biru atau ungu tua menunjukkan positif terhadap fenolik.