

BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia FK UNTAR pada bulan Maret 2013 hingga Juni 2014.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat-alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain : alat-alat gelas, neraca analitik, tabung reaksi, penangas air, plat tetes, mortar, aluminium foil, batang pengaduk dan pipet tetes.

3.2.2 Bahan

Bahan penelitian yang digunakan adalah daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*). Bahan kimia dan pereaksi yang digunakan adalah kloroform, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat, aquades, eter, NaOH 10%, HCl 2N, etanol, logam magnesium, HCl pekat, metanol, FeCl₃ 1%, amoniak, pereaksi Dragendorff dan pereaksi Meyer

3.3 Disain dan Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental. Beberapa tahap penelitian yang harus dilalui meliputi :

3.3.1 Pengumpulan dan Pengolahan Sampel

Daun Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa sinensis*) segar sekitar 100g

3.3.2 Determinasi Tumbuhan

Untuk mengetahui nama jenis tumbuhan, dilakukan identifikasi jenis dan deskripsi morfologi tumbuhan di laboratorium Herbarium Bogoriense, Bogor. (Lampiran 1)

3.3.3 Pembuatan Ekstrak

Bubuk daun kembang sepatu sebanyak 100g diekstraksi maserasi (perendaman) selama 12 hari dengan pelarut heksan. Setelah proses ekstraksi, selanjutnya dilakukan evaporasi di Laboratorium biokimia FK Untar, kemudian dilakukan uji fitokimia terhadap hasil evaporasi.

3.3.4 Uji Fitokimia

3.3.4.1 Uji Fitokimia Sampel Segar

Uji Alkaloid

- Sampel segar 4 g digerus dalam lumpang porselen
- Tambahkan 20 ml kloroform dan 1ml amoniak
- Digerus lagi sampai halus
- Disaring dengan kapas dan pipet
- Masukkan ke tabung reaksi dan tambahkan 10 tetes H₂SO₄ 2N
- Dikocok 30 detik dan diamkan sampai terbentuk 2 lapisan
- Ambil lapisan atas, kemudian dibagi 3 dan pindahkan kedalam 3 tabung reaksi
- Pada tabung 1, tambahkan 1-2 tetes pereaksi Meyer (endapan putih)
- Pada tabung 2, tambahkan 1-2 tetes pereaksi Dragendorff (endapan jingga)
- Tabung 3 sebagai kontrol

Uji Fenolik

- Sampel segar 4 g digerus dalam lumpang porselen
- Masukkan ke tabung Erlen Meyer
- Tambahkan 10 ml metanol
- Panaskan hingga mendidih
- Diamkan hingga suhunya turun
- Pindahkan ke tabung reaksi dengan menggunakan pipet dan kapas
- Masukkan kedalam 2 tabung reaksi

- Tabung 1 tambahkan 1-3 tetes FeCl_3 1% (larutan/endapan hijau → biru → ungu = fenolik) (tabung 2 = kontrol)

Uji Flavonoid

- Sampel segar 4 g digerus dalam lumpang porselen sampai halus
- Masukkan ke tabung erlen meyer dan tambahkan eter
- Pindahkan ke tabung reaksi
- Saring dengan kapas dan pindahkan dengan pipet ke tabung reaksi lain
- Tambahkan 2 ml NaOH 10% dan dikocok 1-2 menit
- Biarkan sampai terbentuk 2 lapisan
- Ambil lapisan bawah dengan pipet dan pindahkan kedalam tabung reaksi lain
- Tambahkan 1-5 tetes HCl 2N → warna hilang
- Tambahkan 2-3 ml eter, kemudian dikocok selama 1-2 menit dan diamkan
- Ambil lapisan atas dan tambahkan 2-3 etanol, kemudian pindahkan kedalam 2 tabung reaksi lain
- Tambahkan ke tabung 1 0,1 g logam magnesium dan 1ml HCl pekat
- Biarkan 2-3 menit (endapan/larutan kuning → merah = flavonoid) (tabung 2 = kontrol)

Uji Saponin

- Sampel segar 4 g digerus dalam lumpang porselen sampai halus
- Masukkan kedalam tabung reaksi dan tambahkan 5 ml aquades
- Kocok secara kencang selama 1 menit (timbul busa = saponin)

Uji Steroid dan Triterpenoid

- Sampel segar 4 g digerus dalam lumpang porselen
- Tambahkan 10 ml kloroform
- Disaring dengan kapas dan pipet
- Teteskan ke dalam 3 lubang plat tetes (2 reaksi, 1 kontrol)

- Biarkan kering (3-5 menit) dan tambahkan asam asetat anhidrat, kemudian diaduk dengan batang pengaduk
- Tambahkan ke lubang 1 dan 2 H₂SO₄ pekat sebanyak 1-2 tetes (endapan/larutan hijau→biru = Steroid) (endapan/larutan merah →ungu = Triterpenoid)

3.3.4.2 Uji Fitokimia Ekstrak Sampel

Pengujian Golongan Alkaloid

- Ekstrak sampel ditambahkan 2 ml kloroform dan 2 tetes amoniak, kemudian kocok.
- Ambil lapisan bawah (CHCl₃), kemudian ditambahkan 1 ml H₂SO₄ 2N, dikocok dan didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan.
- Lapisan bagian atas direaksikan dengan pereaksi Mayer/Dragendorf
- Jika sampel mengandung alkaloid, maka akan terbentuk endapan putih / jingga.

Pengujian Fenolik

- 1 ml ekstrak sampel ditambahkan dengan etanol dan larutan FeCl₃ 1%.
- Adanya fenolik ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru, biru ungu atau ungu tua

Pengujian Golongan Flavonoid

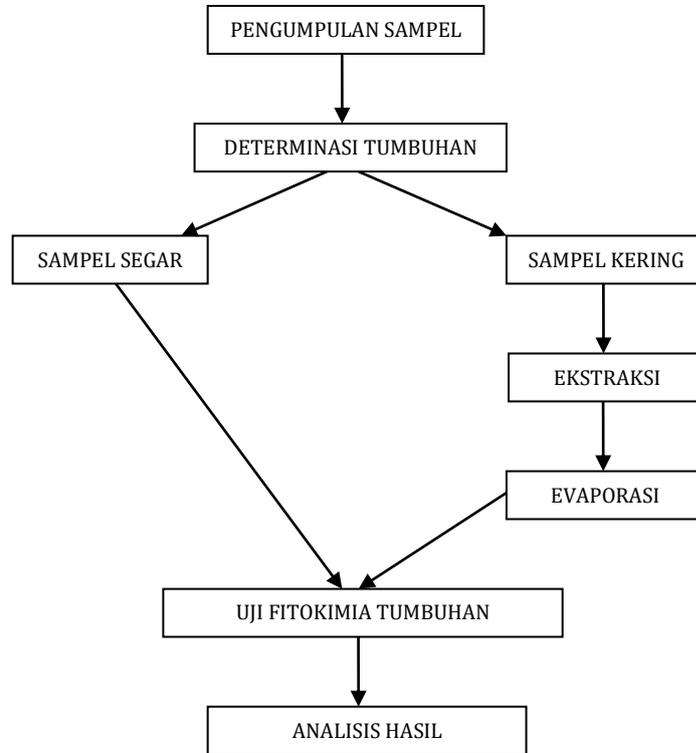
- 1 ml ekstrak sampel ditambahkan 1 ml eter, kemudian kocok, diamkan, ambil lapisan atas (eter) dan pindahkan ke tabung reaksi lain.
- Tambahkan NaOH 1N, kemudian kocok dan tambahkan 1 ml HCl pekat hingga warnanya hilang.
- Pindahkan lagi ke tabung lain dan tambahkan 1 ml amil alkohol, kemudian kocok serta tambahkan sedikit bubuk magnesium dan HCl pekat

- Bila ada flavonoid, maka akan berwarna merah kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

Pengujian Golongan Steroid dan Triterpenoid

- Ekstrak sampel ditambahkan 1 ml kloroform, kemudian kocok dan ambil lapisan bawah (CHCl_3).
- Teteskan pada plat tetes, kemudian dikeringkan
- Tambahkan 2-3 tetes anhidrida asetat
- Adanya steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau-biru.
- Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah-ungu.
- Bila terdapat keduanya, maka akan terbentuk warna merah-biru-ungu dengan terbentuk cincin ditengahnya

3.4 Alur Penelitian



3.5 Jadwal Pelaksanaan

2012												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Penentuan topik				x	x							
Studi literatur							x	x	x	x	x	x
Proposal								x	x	x	x	x
Persetujuan proposal											x	x

2013												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Penelitian									x	x	x	X

2014												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Penelitian	x	x										
Pengolahan hasil penelitian			x	x	x							
Penulisan laporan penelitian					x	x	x	x	x	x	x	x
Pengajuan skripsi												x
Sidang skripsi												x