

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian di Laboratorium Fakultas Kedokteran UNTAR. Waktu penelitian dilakukan pada bulan Juni tahun 2013 sampai bulan Desember tahun 2014.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut:

- Gelas beker
- Tabung reaksi
- Rotari evaporator
- Penangas air
- Mortar
- Aluminium foil
- Plat tetes
- Gunting
- Pipet
- Kapas

3.2.2 Bahan yang digunakan adalah sebagai berikut:

- Pelepah batang pohon pisang batu (*Musa brachycarpa*)
- Metanol
- Kloroform
- Etanol
- Akuades
- Asam asetat glasial
- Bubuk magnesium
- Amil alkohol
- FeCl₃ 1%
- H₂SO₄ 2 N
- Anhidrida asam asetat
- HCL pekat
- Pereaksi Dragendorf
- Pereaksi Meyer

3.3 Desain dan Metode Penelitian

Metode yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen.

Beberapa tahap penelitian yang dilakukan meliputi:

3.3.1 Pengumpulan dan Pengolahan Sampel

Pelepah batang pohon pisang batu (*Musa brachycarpa*) diambil dari pohon yang tumbuh di daerah Jakarta. Pelepah batang pohon pisang segar dipotong kecil-kecil hingga halus. Untuk uji ekstrak kering, pelepah yang sudah diiris kecil-kecil dikeringkan pada suhu ruangan selama beberapa hari hingga didapatkan sediaan kering sebanyak 200-250 gram.

3.3.2 Determinasi Tumbuhan

Untuk mengetahui nama jenis tumbuhan, dilakukan identifikasi jenis dan deskripsi morfologi tumbuhan di Laboratorium Herbarium Bogoriense, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Pusat Penelitian Biologi, Bogor (Lampiran 1).

3.3.3 Pembuatan Ekstrak

Serbuk kering pelepah batang pohon pisang batu (*Musa brachycarpa*) ditimbang sebanyak 200 gram. Kemudian dilakukan maserasi selama 9 hari berturut-turut dengan menggunakan pelarut semi polar kloroform. Setelah proses ekstraksi, selanjutnya dikeringkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Selanjutnya dilakukan uji fitokimia dari ekstrak tersebut.

3.4 Uji Fitokimia Sampel Segar

Uji Golongan Alkaloid

1. Sampel segar pelepah batang pohon pisang batu sebanyak 4 gram yang sudah diiris halus digerus dalam lumpang porselen
2. 20 ml kloroform dan 1ml amoniak ditambahkan ke lumpang porselen
3. Kapas diletakkan ke dalam lumpang porselen dan ambil larutan yang telah disaring dari kapas menggunakan pipet
4. Masukkan ke tabung reaksi dan tambahkan 10 tetes H_2SO_4 2N
5. Tabung dikocok selama 30 detik dan diamkan hingga terbentuk 2 lapisan
6. Lapisan atas diambil dan dibagi ke dalam 3 tabung reaksi
7. Tabung 1, ditambahkan 1-2 tetes pereaksi Meyer (positif bila terbentuk endapan putih)
8. Tabung 2, ditambahkan 1-2 tetes pereaksi Dragendorf (positif bila terbentuk endapan jingga)
9. Tabung 3, digunakan sebagai kontrol

Uji Golongan Fenolik

1. Sampel segar pelepah batang pohon pisang batu 4 gram digerus dalam lumpang porselen
2. Setelah halus dimasukkan ke tabung erlen meyer
3. Ditambahkan 10 ml metanol
4. Dipanaskan hingga mendidih
5. Didiamkan hingga suhunya turun
6. Dipindahkan ke dalam tabung reaksi dengan menggunakan pipet dan kapas
7. Dimasukkan kedalam 2 tabung reaksi berbeda
8. Pada tabung 1 ditambahkan 1-3 tetes FeCl_3 1%

Uji Golongan Flavonoid

1. Sampel segar 4 gram digerus dalam lumpang porselen sampai halus
2. Dimasukkan ke tabung erlen meyer dan ditambahkan eter
3. Sampel dipindahkan ke tabung reaksi
4. Disaring menggunakan kapas dan dipindahkan ke tabung reaksi lain menggunakan pipet
5. Ditambahkan 2 ml NaOH 10% dan dikocok 1-2 menit
6. Didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan
7. Lapisan bawah diambil dengan pipet dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi lainnya
8. Ditambahkan 1-5 tetes HCl 2N → warna akan hilang
9. Ditambahkan 2-3 ml eter, kemudian dikocok selama 1-2 menit dan didiamkan
10. Lapisan atas diambil dan ditambahkan 2-3 ml etanol, kemudian dipindahkan kedalam 2 tabung reaksi lain
11. Pada tabung 1 ditambahkan 0,1 gram logam magnesium dan 1 ml HCl pekat
12. Didiamkan selama 2-3menit (endapan/larutan kuning → merah = flavonoid)
13. Pada tabung 2 digunakan sebagai kontrol

Uji Golongan Saponin

1. Sampel segar 4 gram digerus dalam lumpang porselen sampai halus
2. Sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 ml akuades
3. Dikocok secara kencang selama 1 menit (jika timbul busa = saponin)

Uji Golongan Steroid dan Triterpenoid

1. Sampel segar 4 gram digerus dalam lumpang porselen
2. Ditambahkan 10 ml kloroform
3. Disaring dengan kapas dan pipet
4. Diteteskan ke dalam 3 lubang plat tetes (2 lubang untuk reaksi, 1 lubang untuk kontrol)
5. Dibiarkan mengering (3-5menit) dan ditambahkan asam asetat anhidrat, kemudian diaduk dengan menggunakan batang pengaduk
6. Pada lubang 1 dan 2 ditambahkan H_2SO_4 pekat sebanyak 1-2 tetes (endapan/larutan hijau \rightarrow biru = Steroid) (endapan/larutan merah \rightarrow ungu = Triterpenoid)

3.5 Uji Fitokimia Ekstrak Sampel Kering

Pengujian Golongan Alkaloid

1. Ekstrak sampel ditambahkan 2ml kloroform dan 2 tetes amoniak, kemudian dikocok
2. Lapisan bawah ($CHCl_3$) diambil dan dipisahkan ke tabung reaksi lainnya, kemudian ditambahkan 1ml H_2SO_4 2N, dikocok dan didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan
3. Lapisan bagian atas direaksikan dengan pereaksi Mayer dan Dragendorf pada tabung reaksi yang berbeda
4. Jika sampel mengandung alkaloid, maka akan terbentuk endapan berwarna putih pada pereaksi Meyer dan terbentuk endapan jingga pada pereaksi Dragendorf

Pengujian Golongan Fenolik

1. 1 ml ekstrak sampel ditambahkan dengan etanol dan larutan FeCl_3 1%
2. Terbentuknya warna biru, biru keunguan, atau ungu tua menunjukkan adanya senyawa fenolik

Pengujian Golongan Flavonoid

1. 1 ml ekstrak sampel ditambahkan 1 ml eter, kemudian kocok dan didiamkan
2. Lapisan atas (eter) diambil dan dipindahkan ke tabung reaksi lain
3. Ditambahkan NaOH 1N
4. Dikocok dan ditambahkan 1 ml HCl pekat hingga warnanya hilang
5. Dipindahkan lagi ke tabung lain dan ditambahkan 1 ml amil alkohol
6. Dikocok serta ditambahkan sedikit bubuk magnesium dan HCl pekat
7. Bila ada flavonoid, maka akan berwarna merah kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol

Pengujian Golongan Steroid dan Triterpenoid

1. Ekstrak sampel ditambahkan 1 ml kloroform dan dikocok
2. Lapisan bawah (CHCl_3) diambil
3. Dieteskan pada plat tetes, kemudian dikeringkan
4. Ditambahkan 2-3 tetes anhidrida asetat
5. Adanya steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau-biru.
6. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah-ungu. Bila terdapat keduanya, maka akan terbentuk warna merah-biru-ungu dengan terbentuk cincin ditengahnya

3.6 Alur Penelitian

