

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Uji Fitokimia

3.2 Tempat dan Waktu

Tempat : Laboratorium Untar

Waktu : Bulan Januari 2013 - Oktober 2014

3.3 Instrumen Penelitian

Alat :

- Evaporator (Heidolph)
- Lumpang porselen
- Pipet tetes
- Plat tetes
- Batang pengaduk
- Tabung reaksi
- Bejana untuk maserasi
- Jerigen 5 L
- Gelas ukur
- Gelas kimia
- Labu erlenmeyer
- Timbangan gram (Ohaus)
- neraca analitik
- penangas air
- plat tetes
- aluminium foil
- batang pengaduk

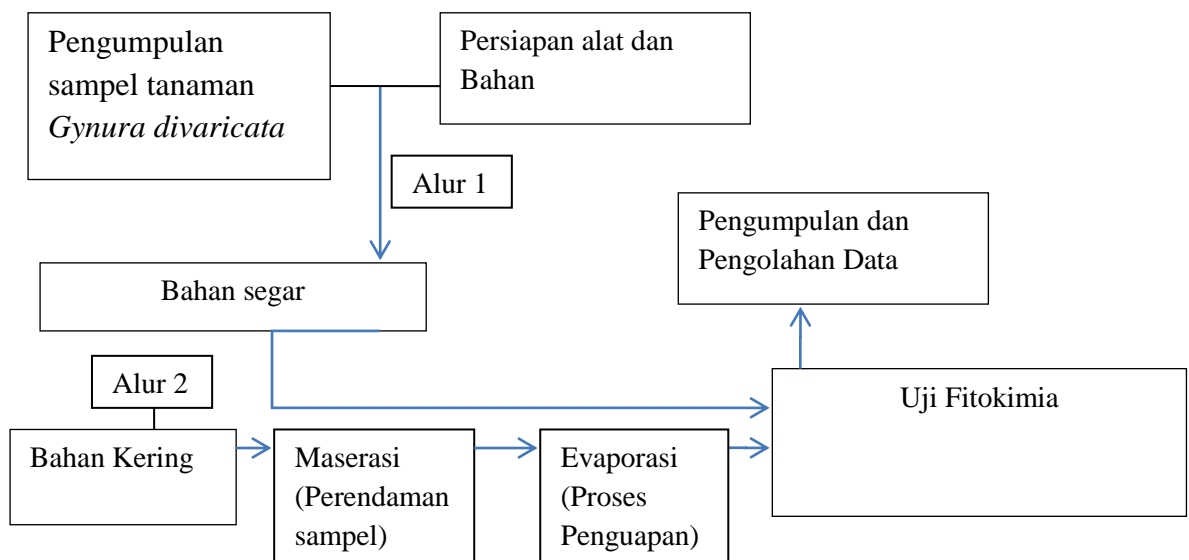
Bahan :

- Pereaksi Meyer
- Pereaksi Dragendorf
- Klorofom
- Asam asetat anhidrat
- H₂SO₄ pekat
- HCl 2N
- HCl pekat
- Eter
- Serbuk Mg
- Metanol
- Aquades
- NaOH 10%
- etanol
- logam magnesium
- FeCl₃ 3%
- amoniak
- .

3.4 Alur Penelitian

Alur 1 : Daun segar → uji fitokimia → Hasil

Alur 2 : Daun kering → Ekstraksi dengan pelarut yang sesuai → uji fitokimia



3.5 Cara kerja Penelitian

3.5.1 Pengumpulan Sampel

Daun tanaman dewa diambil dari tanaman dewa yang dewasa, dikumpulkan dari tanaman budidaya sendiri di Jakarta.

3.5.2 Bahan segar

Daun tanaman digunting kecil kecil. Gerus halus dalam lumpang porselen dan dilakukan dalam keadaan segar dengan masing masing pemeriksaan menggunakan 4 gram tanaman uji.

3.5.3 Persiapan sampel kering, proses maserasi dan evaporasi

Tanaman diblender halus dan dijemur menggunakan panas cahaya matahari secara tidak langsung selama 2 minggu untuk menghilangkan kadar air. Ukur menggunakan timbangan gram sebanyak 200 gram. Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk daun dewa yang sudah dihaluskan dan dikeringkan sebanyak 200 gram dengan pelarut kloroform selama 12 hari dan diaduk setiap hari serta ditampung setiap 3 hari. Selanjutnya ekstrak dievaporasi dengan menggunakan evaporator di Laboratorium bersama 1 Untar. (lampiran 1).

3.6 Uji Fitokimia^{19,20}

3.6.1 Uji fitokimia bahan segar

Uji steroid dan terpenoid sampel 4 gram digerus halus dalam lumpang porselen sambil tambahkan 10 ml kloroform. Saring menggunakan pipet dan kapas kemudian teteskan ke dalam 3 lubang plat tetes. Biarkan 3-5 menit hingga kering dan kemudian tambahkan asam asetat anhidrat sambil diaduk dengan batang pengaduk. Tambahkan H₂SO₄ pekat ke dalam lubang 1 dan 2 sebanyak 2 tetes. Gunakan lubang 3 sebagai kontrol. Steroid akan membentuk endapan/larutan berwarna hijau hingga biru, sedangkan terpenoid akan membentuk endapan/larutan berwarna merah hingga ungu.

Uji saponin sampel 4 gram digerus halus dalam lumpang porselen. Masukkan ke dalam tabung reaksi dan tambahkan 5 ml aquades. Kocok selama 1 menit. Timbulnya busa menandakan adanya kandungan saponin.

Uji flavonoid sampel 4 gram digerus halus dalam lumpang porselen. Masukkan ke dalam erlenmeyer dan tambahkan eter hingga merendam sampel kemudian kocok. Saring menggunakan kapas dan pipet kemudian pindahkan ke tabung reaksi 1. Tambahkan 2 ml NaOH 10% dan kocok selama 2 menit kemudian diamkan hingga membentuk 2 lapisan (lapisan atas dan bawah). Ambil lapisan bawah dengan pipet dan pindahkan ke tabung reaksi 2. Tambahkan 5 tetes HCl 2N ke tabung 2 sambil dikocok hingga warnanya hilang. Tambahkan eter kemudian kocok selama 2 menit dan diamkan hingga membentuk 2 lapisan lagi (lapisan atas dan bawah). Ambil lapisan atas dan pindahkan ke tabung reaksi 3 kemudian tambahkan etanol 3 tetes. Pindahkan ke dalam tabung reaksi 4 dan 5. Tambahkan ke tabung reaksi 4, logam magnesium sebanyak 0,1 gram dan HCl pekat sebanyak 1 ml kemudian biarkan 3 menit. Gunakan tabung 5 sebagai kontrol. Flavonoid akan membentuk endapan/larutan berwarna kuning hingga merah.

Uji fenolik dan tanin sampel 4 gram digerus halus dalam lumpang porselen. Masukkan ke dalam erlenmeyer dan tambahkan metanol hingga merendam sampel. Panaskan hingga mendidih kemudian angkat dan dinginkan. Saring menggunakan kapas dan pipet kemudian masukkan ke dalam 2 tabung reaksi. Tabung 1 tambahkan dengan 3 tetes FeCl_3 1% dan gunakan tabung 2 sebagai kontrol. Fenolik/tanin akan membuat endapan/larutan dengan warna hijau, biru hingga ungu.

Uji alkaloid sampel 4 gram digerus halus dalam lumpang porselen. Tambahkan 20 ml kloroform dan 3 ml amoniak sambil terus digerus dan menjadi berwarna. Saring menggunakan kapas dan pipet kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi dan tambahkan 10 tetes H_2SO_4 2N. Kocok sekitar 30 detik kemudian diamkan hingga terbentuk 2 lapisan. Ambil lapisan atas menggunakan pipet dan pindahkan ke 3 tabung reaksi. Tabung 1 tambahkan 2 tetes pereaksi meyer. Tabung 2 tambahkan 2 tetes pereaksi dragendorf. Tabung 3 tambahkan 2 tetes aquades dan jadikan kontrol. Alkaloid ditemukan jika pada tabung 1 membentuk endapan berwarna putih dan tabung 2 membentuk endapan berwarna jingga.

3.6.2 Prosedur maserasi

Keringkan sampel selama 2 minggu menggunakan panas cahaya matahari secara tidak langsung sampai kadar air dalam sampel hilang, kemudian haluskan sampel. Siapkan peralatan maserasi dengan menempatkannya di atas standar kaki tiga. Timbang bahan sebanyak 200 gram pada timbangan gram kemudian masukkan sampel yang sudah halus dan kering ke dalam tabung maserasi dengan cara menuangkan langsung secara perlahan. Masukkan pelarut yang sesuai dengan menggunakan corong sampai semua sampel terendam pelarut.

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloroform. Lakukan pengadukan dengan menggunakan batang pengaduk sampai semua sampel terendam dalam pelarut secara merata. Lakukan perendaman selama 3 hari sambil diaduk setiap hari. Pada hari ketiga ambil filtrat/maserat dengan cara membuka kran dan menampung larutan maserat dengan gelas kimia. Lakukan maserasi ini dengan menambahkan kembali pelarut ke dalam tabung perkolasi sampai tiga kali pengulangan.

3.6.3 Prosedur evaporasi pelarut

Siapkan alat evaporator lengkap dengan segala alat penunjangnya. Masukkan larutan maserat ke dalam labu evaporator sampai sekitar 2/3 volumenya. Hidupkan alat evaporator kemudian atur kecepatan (rpm) rotary sedemikian rupa dan buka kran alat vakum. Lakukan evaporasi sampai diperoleh maserat/ ekstrak yang tidak mengandung pelarut lagi. Hentikan alat evaporator, tutup kran vakum dan buka labu evaporator. Keluarkan maserat / ekstrak dari labu evaporator, selanjutnya lakukan pengujian fitokimia terhadap ekstrak yang dihasilkan.

3.6.4 Uji Fitokimia pada ekstrak kloroform

1. Pengujian golongan alkaloid

Hasil ekstraksi ditambahkan 2 mL kloroform dan amoniak sekitar 2 tetes, kemudian dikocok, ambil lapisan bawah (CHCl_3), kemudian ditambahkan 1 ml H_2SO_4 2N, dikocok dan didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan bagian atas direaksikan dengan pereaksi Meyer / Dragendorf. Jika sampel mengandung alkaloid akan terbentuk endapan putih / jingga.

2. Pengujian golongan steroid dan terpenoid

Hasil ekstraksi ditambahkan 1 mL kloroform dan dikocok lalu ambil lapisan bawah (CHCl_3), kemudian diteteskan pada plat tetes lalu dikeringkan. Selanjutnya ditambahkan 2-3 tetes anhidrat asetat dan ditambahkan H_2SO_4 . Adanya steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau-biru. Sedangkan adanya terpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah-biru-ungu dengan terbentuk cincin ditengahnya.

3. Pengujian golongan fenolik

1 mL hasil ekstraksi ditambahkan etanol dan larutan FeCl_3 3%. Adanya fenolik ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru atau biru ungu/ungu tua.

4. Pengujian golongan flavonoid

1 ml hasil ekstraksi ditambahkan eter kemudian kocok, diamkan, dan ambil lapisan atas (eter) pindahkan ke tabung reaksi lain tambahkan NaOH 1N, lakukan pengocokan lagi dan tambahkan 1 ml HCl pekat sampai warna hilang, pindahkan lagi ke tabung lain + 1 ml amil alkohol kemudian kocok, beri sedikit bubuk magnesium dan HCl pekat, flavonoid akan positif jika menimbulkan warna merah kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol.