

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tahun 2019 bertempat di Laboratorium Farmasi Fakultas Teknologi Dan Ilmu Komputer Universitas Buana Perjuangan Karawang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak batang randu adalah Plat KLT, Spektrofotometer UV-VIS, *Chamber*, Plastik *Wrapping*, Rotari evaporator, Spatula logam, Beaker glass, Meserator.

3.2.2 Bahan

Batang randu (*Ceiba pentandra* (L) Gaertn, n- heksana, Metanol, Etil Asetat.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Penyiapan Sampel

Sampel diperoleh dari Desa Cengkong Kecamatan Purwasari Propinsi Jawa Barat. Kemudian dilakukan determinasi di Institut Teknologi Bandung dan diolah menjadi simplisia dengan melalui tahap pengumpulan bahan, sortasi kering, pencucian, perajangan, sortasi basah, pengeringan dan penyimpanan.

3.3.2 Pengolahan Sampel

Batang randu *Ceiba pentandra* (L) Gaertn dibersihkan kemudian dipotong-potong dan dijemur pada suhu kamar hingga kering. Batang randu yang telah kering kemudian dihaluskan.

3.4 Skrining Fitokimia

A. Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan menggunakan pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat (II)), Wagner (iodin dalam kalium iodida) dan Dragendorff (bismut nitrat dalam kalium iodida). Sampel yang mengandung alkaloid akan membentuk endapan jingga sampai kecoklatan dan terbentuk endapan apabila direaksikan dengan masing-masing dari ketiga reagen tersebut.

B. Uji Flavonoid

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi serbuk magnesium (Mg) dan asam klorida pekat (HCl). Penambahan serbuk Mg bertujuan agar membentuk ikatan dengan gugus karbonil pada senyawa flavonoid. Penambahan HCl bertujuan untuk membentuk garam flavilium yang ditandai dengan perubahan warna menjadi merah jingga.

C. Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan melarutkan sampel dalam akuades kemudian dipanaskan selama 15 menit lalu dikocok selama 10 detik. Jika terbentuk buih yang stabil selama kurang lebih 10 menit dan ditambahkan beberapa tetes asam klorida 2 N, maka sampel positif mengandung saponin.

D. Uji Polifenol

Menurut "(Tiwari *et al*, 2011) sejumlah simplisia ditambahkan 3-4 tetes larutan besi klorida, terbentuknya warna biru-hitam menunjukkan adanya fenolik".

E. Uji Steroid

Menurut “(Ayoola *et al*, 2008) sejumlah 0,5 g masing-masing ditambahkan dengan 2 mL kloroform. Kemudian dengan hati-hati ditambahkan (3 mL) H_2SO_4 pekat sampai membentuk lapisan. Terbentuknya warna merah kecoklatan pada permukaan menunjukkan adanya terpenoid”.

F. Kadar Air dengan metode Destilasi

Penetapan kadar air ekstrak dapat dilakukan dengan beberapa cara misalnya dengan titrasi langsung atau tidak langsung, destilasi atau gravimetri. Pada praktikum ini akan dilakukan penetapan kadar air dengan destilasi menggunakan destilasi toluen.

Kedalam labu bersih dan kering dimasukkan sejumlah ekstrak kental yang telah ditimbang seksama kemudian tambahkan 200 ml toluene, hubungkan alat tuangkan toluen, hubungkan alat. Tuangkan toluen ke dalam labu penerima melalui alat pendingin. Panaskan labu hati-hati selama 15 menit. Setelah toluen mendidih, sulung dengan kecepatan lebih kurang 2 tetes tiap detik, hingga sebagian air tersuling, kemudian naikan kecepatan penyulingan hingga 4 tetes tiap detik. Setelah semua air tersuling, biarkan tabung penerima mendingin hingga suhu kamar. Setelah air dan toluen memisah sempurna, baca volume air. Hitung kadar air dalam % v/b.

3.5 Ekstraksi sampel

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol p.a. Sampel dimasukkan ke meserator kemudian direndam dengan metanol. Meserator ditutup dengan aluminium foil dan didiamkan selama 3 hari dengan sesekali dikocok. Kemudian hasil ekstrak disaring untuk memperoleh filtrat dan simplisia yang telah diekstraksi dilakukan remaserasi, kemudian hasil ekstraksi dipekatkan dengan evaporator.

3.6 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Uji KLT dilakukan terhadap fraksi-fraksi yang akan difraksinasi dan juga fraksi-fraksi yang didapat setelah perlakuan fraksinasi. Uji KLT dilakukan menggunakan sistem campuran eluen menggunakan pelarut n-heksan, etilasetat, metanol dan kloroform.

3.7 Kromatografi Kolom

Pemisahan dengan kromatografi kolom dilakukan dengan menggunakan rangkaian alat kromatografi kolom yang ditegakkan dengan statif. Kemudian sejumlah kapas dimasukkan ke dalam bagian paling bawah dari kolom, tidak terlalu padat atau terlalu longgar. Silika gel (fase diam) ditimbang sebanyak 20 g dan didispersikan dalam n-heksan secukupnya. Silika gel yang telah basah atau seperti bubur dimasukkan dengan cara di pipet sedikit demi sedikit agar silika gel tersusun dengan rata di dalam kolom. Ekstrak kental yang sudah di campur dengan silika gel dimasukkan ke dalam kolom, kemudian ditambahkan pelarut pengembang ke dalam kolom sedikit demi sedikit. Hasil pemisahan ditampung dalam botol vial, masing-masing 10 ml dan di beri nomor. Kemudian masing-masing fraksi pada vial diuji dengan KLT. Fraksi yang menampakkan bercak (dengan nilai R_f) yang sama dikumpulkan dan di diamkan supaya menguap.

3.8 Kromatografi Lapis Tipis Dua Dimensi

Pengujian ini dilakukan dengan menotolkan isolat aktif pada lempeng KLT dengan ukuran 6x6 cm kemudian di elusi pada arah 1 dengan eluen n-heksana - etil asetat (2:8) dan arah 2 dengan eluen yang sama.

3.9 Uji penampak bercak

Uji ini bertujuan untuk mengetahui metabolit apa yang terkandung pada batang randu *Ceiba pentandra* (L) Gaertn.

A. Sitoborat

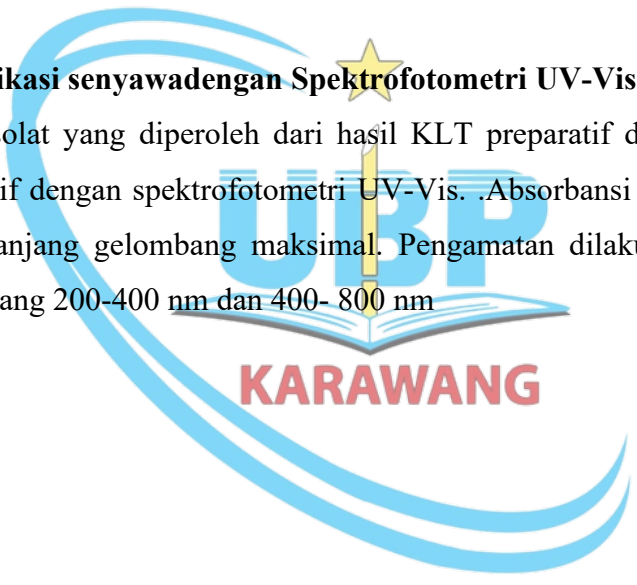
5 gr asam sitrat ditambahkan 5 gr asam borat dilarutkan dengan 100 ml metanol, setelah itu plat disemprot lalu panaskan selama 5-10 menit.

B. Sianidin Tes

Serbuk Mg+HCl pekat, terjadinya perubahan warna menunjukkan bahwa adanya flavonoid.

3.10 Identifikasi senyawa dengan Spektrofotometri UV-Vis

Isolat yang diperoleh dari hasil KLT preparatif diidentifikasi secara kualitatif dengan spektrofotometri UV-Vis. Absorbansi senyawa flavonoid pada panjang gelombang maksimal. Pengamatan dilakukan pada panjang gelombang 200-400 nm dan 400- 800 nm



KARAWANG

3.11 Diagram Alir Penelitian

