BAB III
METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

3.1.1 Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Universitas Buana Perjuangan Karawang

3.1.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari sampai Maret 2019.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain :

- Alat-alat gelas
- Krus porselin
- Oven
- *Waterbath* (Memmert)
- Timbangan listrik
- *Furnace* (Nabetherm)
- *Rotary evavorator* (Eyela)
- Desikator
- Alat untuk penetapan kadar air

3.2.2 Bahan

- Aqudest
- Etanol 96%
- N-Heksana
- Etil-Asetat
- Toluen
- HCl
- Serbuk Mg (Magnesium)
- $FeCl_3$

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Determinasi Tanaman

Identifikasi tanaman/determinasi dilakukan untuk memastikan bahan yang digunakan benar-benar merupakan bunga kangkung pagar (*Ipomoea carnea*).

3.3.2 Pengumpulan Bahan

Bunga kangkung pagar di peroleh di Karawang, pada bulan Februari sampai Maret 2019, kemudian setelah dikumpulkan kemudian di sortasi basah dari kotoran-kotoran atau bahan asing sehingga dapat mengurangi jumlah pengotor yang ikut terbawa dalam bahan uji, setelah selesai sortasi basah kemudian dilanjutkan dengan sortasi kering, ditimbang kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk. Kemudian simplisia disimpan dalam wadah bersih, kering dan terlindung dari cahaya.

3.3.3 Pembuatan Ekstrak

Serbuk simplisia kering dimaserasi dengan pelarut etanol 96%. Kemudian hasil maserasi disaring, ekstraksi yang diperoleh dipekatkan dengan *rotrary evavorator* dan *waterbath*, sehingga diperoleh ekstrak etanol 96% kental, kemudian dihitung rendemennya terhadap berat simplisia awal.

3.3.4 Uji Kandungan Kimia

Pada sampel simplisia dilakukan pemeriksaan kandungan kimia antara lain :

a. Identifikasi Flavanoid

Ekstrak ditambahkan sesepora serbuk Mg kemudian di tambahkan HCl kemudian munculnya warna kuning.

b. Identifikasi Alkaloid

Identifikasi dilakukan dengan menggunakan larutan dragendrof. Ekstrak ditambahkan 2 mL HCl, kemudian dimasukan 1 mL larutan Dragendroff. Perubahan warna larutan menjadi jingga atau merah mengindikasi bahwa ekstrak mengandung alkaloid.

c. Identifikasi Saponin

Ekstrak ditambahkan 1 ml air panas dalam tabung reaksi. Selanjutnya larutan didinginkan dan dikocok selama 10 detik. Terbentuknya buih selama kurang lebih 10 menit dengan ketinggian 1-10 cm dan tidak hilang bila ditambahkan 1 tetes HCl 2N menandakan bahwa ekstrak diuji mengandung saponin.

d. Identifikasi Tanin

Identifikasi Tanin 1-2 gram ekstrak dimasukakkan kedalam tabung reaksi, tambahkan aquadest dipanaskan selama 5 menit, kemudian tambahkan bebrapa tetes $FeCl_3$ hasil positif menunjukan warna hitam pada penambahan $FeCl_3$.

3.3.5 Uji Organoleptik

Untuk mengetahui organoleptis dari simplisia bunga kangkung pagar, digunakan panca indera untuk mendeskripsikan bentuk, bau, rasa, dan warna.”

3.3.6 Susut Pengeringan

Susut pengeringan adalah kadar bagian yang menguap suatu zat. Kecuali dinyatakan lain, suhu penguapan adalah 105℃ dan susut pengeringan ditetapkan sebagai berikut : Timbang 1 g sampai 2 g simplisia atau ekstrak. Kemudian masukan kedalam cawan porselen yang telah ditara, selanjutnya masukan ke dalam oven dengan suhu 105℃ dan kemudian di hitung bobot tetap.

3.3.7 Penetapan Kadar Air dengan Cara Destilasi

Penetapan kadar air pada penelitian ini menggunakan cara destilasi, yaitu simplisia ditimbang sebanyak 5 g dan dimasukkan ke dalam labu, kemudian dimasukan lebih kurang 200 mL toluen yang sudah di jenuhkan 24 jam ke dalam labu dan alat dihubungkan dan dilakukan destilasi samapai adanya pemisahan antara air dan toluen. Dapat menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Jumlah air pada tabung penerima}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\ \%$$

3.3.8 Penetapan Kadar Abu Total

Sejumlah 3 g serbuk yang telah digerus dan ditimbang seksama, dimasukan kedalam krus silikat atau krus platina yang telah dipijarkan dan ditara, lalu serbukdiratakan. Krus dipijarkan perlahan-lahan hingga suhu 500-600℃ hingga arang habis atau abu habis, selanjutnya didinginkan dalam desikator selama 10 menit dan ditimbang hingga bobot tetap. Dihitung kadar abu dalam persen terhadap simplisia yang telah dikeringkan diudara. Dapat menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar abu total} = \frac{\text{Berat abu total}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$$

3.3.9 Penetapan Kadar Abu Larut Air

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu, ditambahkan 25 ml air dan didihkan selama 5 menit. Zat yang tidak larut disaring dengan menggunakan kertas saring bebas abu. Dicucui dengan air panas dan dipijarkn dalam krus selama 30 menit pada suhu tidak lebih 450℃. Bobot residu dikurangkan dengan bobot abu total. Dihitung bobot abu yang larut dalam mg per g terhadap bahan yang dikeringkan diudara. Dapat menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar abu larutt air} = \frac{\text{Berat abu total} - \text{berat abu tidak larut air}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$$

3.3.10 Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu yang diperoleh di didihkan dengan 25 mL asam klorida selama 5 menit. dikumpulan bagian yang tidak larut asam, di saring melalui kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas. Abu yang tersaring dan kertas saringnya dimasukankan kembali dalam krus (dengan suhu 450℃) kemudian ditimbang hingga bobot tetap. Dapat menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar abu larut asam} = \frac{\text{Berat abu tidak larut asam}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$$

3.3.11 Penetapan Kadar Sari Larut Air

Timbang serbuk 5 g, masukan kedalam erlenmeyer kemudian di maserasi selama 24 jam dengan pelarut air 100 mL, kemudian ditutup dengan alumunium foil dan ditutup dengan plastik hitiam agar terindar dari cahaya, setelah itu kemudian di sambil berkali-kali dikocok selama 30 menit pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Disaring, diupkan 20 ml filtrate hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara, dipanaskan sisa pada suhu 105℃ hingga bobot teteap. Dihitung kadar dalam persen sari yang larut dalam air. Dapat menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar sari larut air} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat simplisia}} \times \frac{\text{Volume pelarut}}{\text{Vol.filtrat yang diambil}} \times 100\%$$

3.3.12 Penetapan Kadar Sari Larut Etanol

Timbang 5 g simplisia atau ekstrak, kemudian dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml etanol (96%), kemudian di kocok berkali-kali selama 30 menit dan kemudian dibiarkan selama 24 jam. Disaring dengan cepat menghindarkan penguapan etanol (96%), diuapkan 25 ml hasil ekstraksi hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara, dipanaskan sisa pada suhu 105℃ hingga bobot tetap. Dihitung kadar persen sari yang larut dalam (etanol 96%). Dapat menggunakan rumus sebagai berikut :

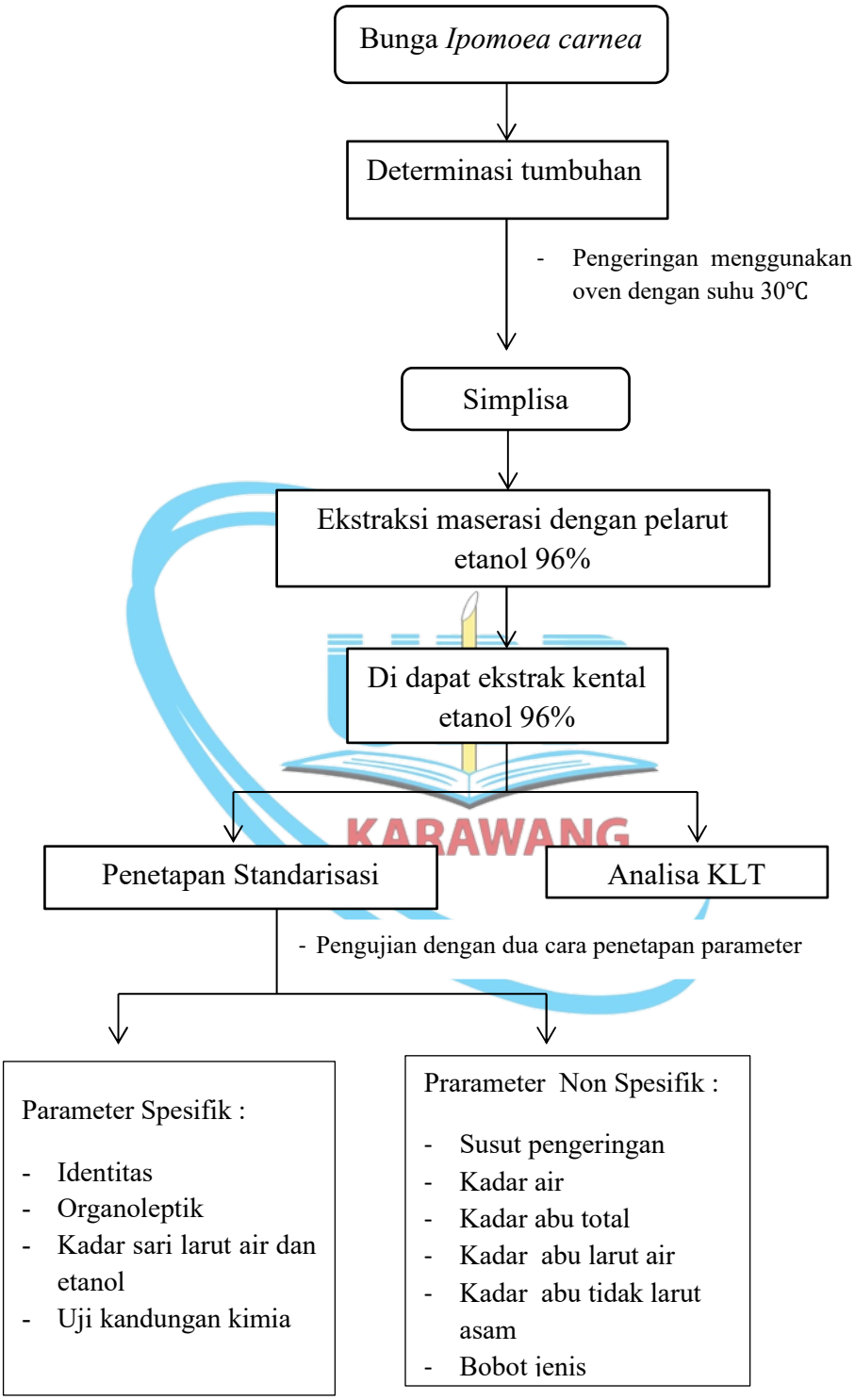
$$\text{Kadar sari larut etanol} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat simplisia}} \times \frac{\text{Volume pelarut}}{\text{Vol.filtrat yang diambil}} \times 100\%$$

3.3.13 Uji Kromatografi Lapis Tipis

Ekstrak bunga kangkung ditotolkan, kemudian dielusi dengan fase gerak etil asetan : n-heksan. Plat KLT yang sudah dielusi dideteksi pada

lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan Vis dengan panjang gelombang 365 nm kemudian dihitung Rf masing-masing.

3.4 Diagram Alir Penelitian



UBP
KARAWANG