

BAB III

METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimen yang dilaksanakan di Laboratorium Bahan Alam dan Kimia Farmasi Program Studi Farmasi Fakultas Teknologi dan Ilmu Komputer, Universitas Buana Perjuangan Karawang pada bulan April sampai Agustus 2019.

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan untuk identifikasi dan karakterisasi senyawa metabolit sekunder yaitu beker glass, tabung reaksi, batang pengaduk, spatula, rak tabung. Untuk proses perbandingan kandungan vitamin C menggunakan metode titrasi iodimetri yaitu erlenmeyer, pipet tetes, statif, klem, buret, corong, gelas ukur, kertas saring, pisau, kertas timbang, pipet ukur, timbangan, kompor listrik, beaker glass.

2.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan untuk senyawa metabolit sekunder ialah buah jambu biji merah dan jambu biji putih yang didapatkan dari daerah karawang barat. Bahan yang digunakan uji fitokimia pereaksi Mayer dan Dragendorf dipakai untuk identifikasi alkaloid, pereaksi Lieberman Burchard (anhidrid asetat dan asam sulfat pekat) untuk identifikasi terpenoid dan steroid, (asam klorida pekat dan bubuk Magnesium) untuk identifikasi flavonoid dan besi (III) klorida (FeCl_3) untuk identifikasi fenolik, pereaksi FeCl_3 untuk Polifenolat, gelatin untuk identifikasi tanin, KOH untuk identifikasi kuinon, (vanilin dan asam sulfat) untuk identifikasi monoterpenoid dan sesquiterpenoid. Bahan yang digunakan untuk pengujian kandungan vitamin C ini adalah jambu biji merah, jambu biji putih, iodium 0,1 N, larutan amilum 1%.

2.3 Pembuatan pereaksi

1. Larutan iodium 0,1 N

Timbang larutan 7g I₂ murni dalam botol timbang, masukkan kedalam beaker glass, selanjutnya timbang 18 g KI dan larutkan dalam 50 ml aquadest, tambahkan ke dalam beaker glass yang berisi 7 g I₂, lalu aduk hingga merata, kemudian pindahkan ke dalam labu ukur, encerkan dengan air aquadest hingga volume jadi 500 ml sambil dikocok, setelah merata masukkan ke dalam botol coklat.

2. Larutan Amilum 1%

Timbang 500 mg amilum, larutkan dengan 5 ml air aquadest, encerkan hingga 100 ml air sambil diaduk, didihkan beberapa menit sampai amilum larut, kemudian saring.

3. Larutan Asam Sulfat (H₂SO₄)

Dipipet 0,13 ml asam sulfat pekat, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, lalu tambahkan pelarut sampai garis tanda labu ukur, dikocok, kemudian masukkan ke dalam botol coklat.

4. Larutan Natrium tioulfat, tambahkan 0,2 gram natrium bikarbonat, masukkan dalam beaker glass 250 ml dan tambahkan aquadest 100 ml, aduk hingga larut sempurna, lalu masukkan larutan ke dalam labu takar 250 ml, tambahkan aquadest sampai tanda batas. Kemudian standarisasi Natrium Tiosulfat.

2.4 Persiapan Sampel

Sampel buah jambu biji merah dan jambu biji putih dibersihkan dengan air yang mengalir, kemudian ditimbang untuk mengetahui berat buah jambu biji merah dan jambu biji putih, dirajang, lalu sampel buah jambu biji merah dan jambu biji putih digerus atau diblender tanpa penambahan air untuk mendapatkan ekstrak murni dari buah jambu biji merah dan jambu biji putih.

2.5 Penetapan kadar Vitamin C dalam larutan sampel dengan larutan Iodium Standar

Timbang sampel buah jambu biji merah dan jambu biji putih masing-masing 500 mg larutan, dimasukan ke dalam beaker glass larutkan dalam 100 ml air, dipipet 25 ml larutan sampel buah jambu biji masukan kedalam erlenmeyer, tambahkan larutan H_2SO_4 sebanyak 5 ml, sampel buah jambu biji merah dan jambu biji putih ditambahkan 20 tetes amilum 1% dan titrasi dengan larutan iodin 0,1 N sampai berubah menjadi warna biru.

2.6 Pembuatan Reagen Untuk Uji Fitokimia

Adapun jenis reagen yang digunakan pada Uji fitokimia adalah :

1. Pereaksi Mayer

Sebanyak 1,36 gram raksa (II) klorida dilarutkan dengan 60 mL akuades di dalam gelas piala. Kemudian di dalam gelas piala terpisah, 1 gram kalium iodida dilarutkan dengan 10 mL akuades. Kedua larutan tersebut dicampurkan dan disaring. Campuran ini diencerkan hingga 100 mL di dalam labu ukur dengan akuades.

2. Pereaksi Lieberman-Burchard

Sebanyak 5 mL anhidrida asetat dan 5 mL asam sulfat pekat dicampurkan secara perlahan di dalam gelas piala, lalu diencerkan hingga 100 mL dengan pelarut etanol.

3. Larutan Besi (III) Klorida 5%

Sebanyak 5 gram kristal besi(III) klorida dimasukkan ke dalam gelas piala. Kemudian dilarutkan dengan akuades hingga 100 mL.

4. Larutan Asam Sulfat 2 N

Sebanyak 13,9 mL asam sulfat pekat dimasukkan ke dalam gelas piala yang telah berisi 100 mL akuades secara perlahan melalui dinding gelas, kemudian diencerkan hingga volume 250 mL

5. Larutan Natrium Hidroksida 1%

Sebanyak 1 gram natrium hidroksida dilarutkan dengan akuades sampai volume 100 mL dalam beaker glass

2.7 Skrining Fitokimia

1. Uji Kandungan Alkaloid

Ekstrak jambu biji merah dan jambu biji putih dimasukkan dalam 3 tabung reaksi. Tabung I ditetesi pereaksi Bouchardat, jika terbentuk endapan coklat maka positif mengandung alkaloida. Tabung II ditetesi pereaksi Meyer, jika terbentuk endapan putih, maka positif mengandung alkaloida. Tabung III ditetesi pereaksi Dragendorff, jika terbentuk endapan ingga, maka positif mengandung alkaloida (Harbone, 1987).

2. Uji Kandungan Saponin

Ekstrak jambu biji merah dan jambu biji putih dimasukan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10ml aquadest, kemudian dukocok kuat-kuat. Jika terbentuk busa maka positif mengandung saponin (Harbone, 1987).

3. Uji Kandungan Flavonoid.

Filtrat hasil pemanasan dengan aquadest dimasukan kdalam tabung reaksi ditambahkan serbuk Mg dan 0.5 ml HCl, lalu dikocok kuat, adanya warna merah/jingga/kuning menunjukan positif Flavonoid (Harbone, 1987).

4. Uji Kandungan Tanin

Ekstrak jambu biji merah dan jambu biji putih dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan FeCl_3 1%, jika terbentuk larutan berwarna hitam maka positif mengandung tannin (Harbone, 1987).

5. Uji Steroid dan Terpenoid

Ekstrak jambu biji merah dan jambu biji putih disaring dengan 25ml eter selama 2 jam kemudian saring. Filtrat sebanyak 5ml diuapkan dengan cawan penguap. Kemudian ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat lalu ditambahkan 1 tetes asam sulfat pekat. Bahan positif mengandung steroid/triterpenoid jika terbentuk warna ungu-biru/ hijau (Harbone, 1987).

6. Uji Kuinon

Ekstrak jambu biji merah dan jambu biji putih dimasukan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan pereaksi NaOH, jika terbentuk larutan warna kuning tua, jingga atau merah maka positif mengandung kuinon (Harbone, 1987).

7. Uji Polifenol

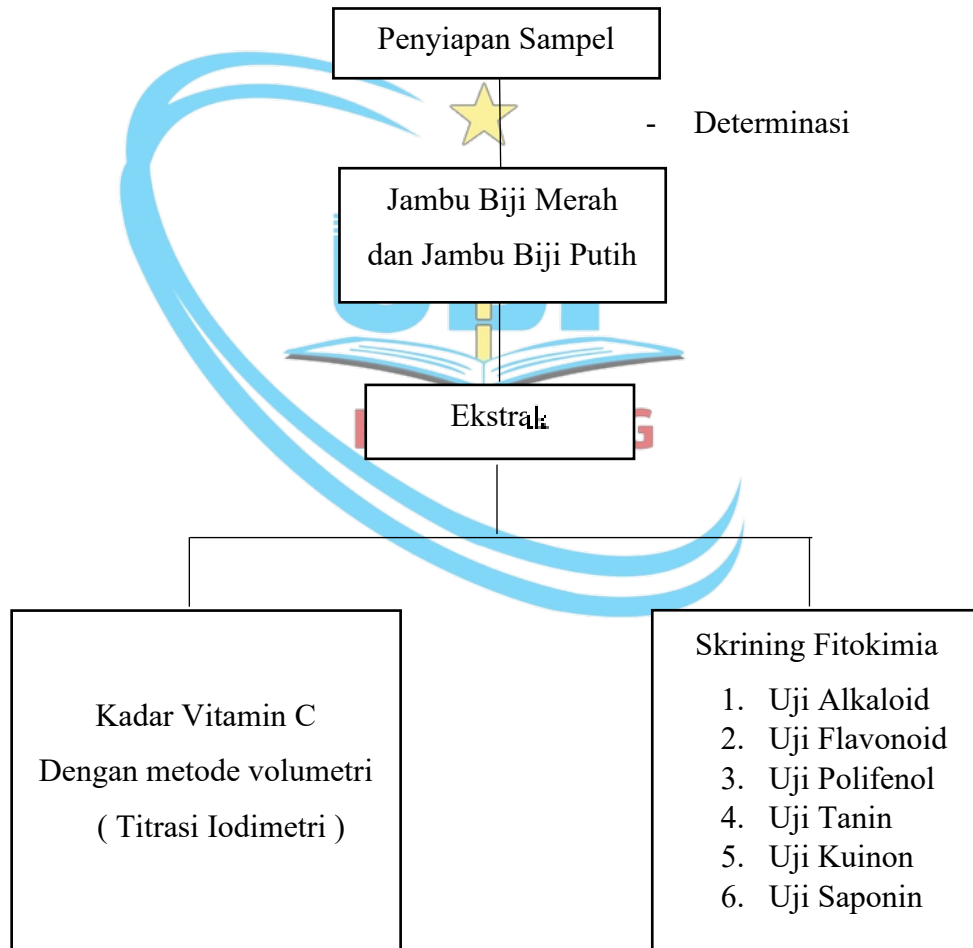
Ekstrak jambu biji merah dan jambu biji putih dimasukan dalam tabung reaksi, ditambahkan sedikit-sedikit aquadest, kemudian dipanaskan lalu

ditambahkan pereaksi FeCl_3 5%, jika terbentuk larutan warna coklat atau biru kehitaman maka positif mengandung Polifenol (Harbone, 1987).

8. Uji Monoskuiterpenoid

Ekstrak jambu biji merah dan jambu biji putih dimasukan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan eter 1 ml, vanilin sulfat 10% dan H_2SO_4 pekat, jika terbentuk larutan warna-warna mengandung Monoskuiterpenoid (Harbone, 1987).

2.8 Diagram Alir



Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian

