BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Labolatorium Farmasi Buana Perjuangan Karawang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2020 sampai dengan bulan Agustus 2020.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan bahan, neraca analitik (ae-ADAM), labu Erlenmeyer, tabung reaksi, oven, maserator, corong, kolom kromatografi, botol vial 10 ml, plat KLT, lampu UV (λ 254 dan 366 nm) sebagai pengungkap noda, batang pengaduk, *Centrifuge* PLC-025, incubator 601 *merck* (Gemmyco), spatula, botol coklat, pipet tetes, pipet ukur, pipet volum, *Rotary Evaporator* (EYELA OSB-2100-CE), *water bath, chamber*, gelas ukur, beaker glass dan lainnya.

3.2.2 Bahan

Bahan yang akan di gunakan selama penelitian adalah daun remek daging *(Hemigraphis colorata* Hort.Bull.), pelarut metanol, n-heksana, etil asetat, asam sulfat, asam klorida pekat, aquadest, metanol, $FeCl_3$, asam asetat glasial, alumunium foil, silika gel, pereagen sitoborat, pereagen dragendorff, pereagen mayer, pereagen liberman buchard.

3.3 Persiapan Sampel

Tanaman remek daging dideterminasi terlebih dahulu, di determinasi tumbuhan dimaksudkan untuk mendapatkan jenis tumbuhan yang digunakan dengan jelas.

Sampel daun remek daging segar langsung di rajang dan dikeringkan disuhu ruangan dalam suhu ruangan pada suhu antara 20^{o}C sampai 25^{o}C selama 3-4 hari guna mengurangi kadar air yang terkandung didalamnya. Sampel yang telah dikeringkan, kemudian di haluskan menggunakan blander, yang bertujuan untuk memperbesar luas permukaan sehingga interaksi antara sampel dengan pelarut semakain besar guna mempercepat proses pelarutan senyawa yang di inginkan.Untuk mendapatkan bentuk serbuk simplisia yang sama rata dilakukan

proses pengayakan dengan menggunakan pengayak No 100. Sampel yang telah dihaluskan dan telah dilakukan proses pengayakan kemudian disimpan di dalam wadah tertutup baik untuk studi lebih lanjut.

3.4 Penentuan Kadar Air

Kadar air ditentukan dengan menggunakan metode gravimetri, dimana cawan porselen dikeringkan terlebih dahulu didalam oven selama 30 menit kemudian didinginkan didalam desikator selama 15 menit dan ditimbang cawan porselen tersebut. Sebanyak 5 g sampel ditimbang lalu dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105 – 110^{0}C selama 3 jam. Setelah didinginkan dalam desikator selama 15 menit, kemudian ditimbang. Setelah diperoleh hasil penimbangan pertama, lalu cawan yang berisi sampel tersebut dikeringkan kembali selama 30 menit, setelah itu didinginkan dalam desikator selama 15 menit kemudian ditimbang. Hasil penimbangan kedua ini dibandingkan dengan penimbangan pertama. Bila penimbangan kedua mencapai pengurangan bobot tidak lebih dari 0,001 g dari penimbangan pertama maka dianggap konstan. Akan tetapi bila tidak, maka dilakukan penimbangan kembali sampai diperoleh pengurangan bobot dua penimbangan berturut (Sudarmadji,dkk, 1997). Kemudian dihitung persentase kadar air dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{\text{Berat sampel basah (g)} - \text{Berat sampel kering(g)}}{\text{Berat sampel basah (g)}} \times 100\%$$

3.5 Ekstraksi

Pembuatan ekstrak daun remek daging (*Hemigraphis colorata* Hort.Bull) dilakukan dengan metode maserasi, yaitu daun remek daging (*Hemigraphis colorata* Hort.Bull) yang telah dikeringkan, ditimbang dan selanjutnya di ekstraksi dengan menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol dengan cara maserasi bertingkat. Kemudian di masukan kedalam maserator selama 4-5 hari yang sekali kali dikocok/diaduk, lalu disaring dan dikentalkan dengan alat *rotary evoporator* sehingga dihasilkan ekstrak kental dari masing masing pelarut.

3.6 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui dan mengindentifikasi senyawa kimia yang terkandung dalam simplisia maupun ekstrak daun remek daging (*Hemigraphis colorata* Hort.Bull) skrining fitokimia yang dilakukan yaitu

uji alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, polifenol, steroid, terpenoid. Berikut langkah skrining fitokimia:

1. Pemeriksaan Alkaloid

   Empat gram sampel ditambahkan 10 mL ammonia. Larutan tersebut disaring ke tabung reaksi dan filtrat ditambahkan 10 tetes H_2SO_4 2N. Campuran dikocok dan didiamkan sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan atas dipindahkan kedalam tabung reaksi yang masing-masing diisi kurang lebih 1mL. Kemudian ditambahkan pereaksi Mayer, jika didapatkan endapan putih mengindikasikan adanya alkaloid dalam sampel (Harborne, 2006).

2. Pemeriksaan Flavonoid

   Sampel diekstrak dengan methanol dan dipanaskan dalam tabung reaksi. Kedalam tabung reaksi tersebut ditambahkan serbuk magnesium dan asam klorida pekat. Jika hasil dari reaksi berarna merah muda berarti mengandung flavonoid (Harborne, 2006).

3. Pemeriksaan Saponin

   Dua gram sampel dimasukan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan aquadest. Kemudian tabung reaksi dikocok kuat, jika teramati adanya buih yang stabil mengindikasikan sampel mengandung saponin (Harborne, 2006).

4. Pemeriksaan Tanin dan Fenolik

   Sampel yang sudah dirajang halus dikstrak dengan methanol dalam tabung reaksi. Kemudian hasil ekstrak ditetesi 2-3 tetes larutan $FeCl_3$ 1% maka teramati warna biru kehijauan untuk tanin dan hijau kekuningan untuk fenolik (Harborne, 2006).

5. Pemeriksaan Triterpenoid dan Steroid

   Sampel yang sudah dihaluskan diektrak dengan asam asetat glasisal. Hasil ekstrak dipindahkan dengan pipet tetes ke dalam dua tabung reaksi. Kemudian kedalam maisng-masing tabung reaksi ditambahkan asam sulfat pekat. Terbentuknya warna hijau kebiruan menunjukan positif adanya senyawa steroid. Jika terbentuk warna merah atau merah keunguan menunjukan positif adanya triterpenoid (Harborne, 2006).

3.7 Fraksinasi dengan Kromatografi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan komponen dalam suatu ekstrak menjadi kelompok-kelompok senyawa yang memiliki persamaan karakteristik secara kimia. Dilakukan pengujian kromatografi kolom untuk memisahkan komponen komponen yang ada didalam ektstrak atau sampel yang nantinya akan melewati kolom dan keluar dari kolom dalam bentuk tetesan tetasan kecil yang tejadi secara terus menerus. Hasil fraksinasi kromatografi kolom kemudian dianalisis lebih lanjut lagi menggunakan metode kromatografi lapis tipis untuk melihat substansi didalam cairan ekstrak tersebut dibawah sinar ultraviolet dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Houghton dan Raman, 1998).

UBP
KARAWANG