

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Rimpang temu hitam, rimpang temu putih dari , aquadest (BRATACO), α -naftol, natrium sitrat, natrium karbonat anhidrat, iodine, kalium iodide, etanol 96% (BRATACO), larutan mayer, dan larutan dragondroff, asam klorida pekat (HCl pekat) dan serbuk mg, anhidrat asetat, asam sulfat pekat, amil alkohol, gelatin 1%, eter, klorofom, amonia.

3.2 Peralatan Penelitian

Blender (Phillips), wadah, spatula, sendok tanduk, kain untuk menyaring, alumunium foil, oven listrik (GEMMYCO Digital # YCO-NO 1), loyang, mortar, ayakan mesh no 20 40 60 80 100, kapas, mikroskop optik, kaca objek, kaca preparat, tabung reaksi (IWAKI), rak tabung, penjepit kayu, beaker glass (IWAKI), gelas ukur (PYREX), cawan penguap (PYREX), batang pengaduk, kompor listrik (MASPION), kaca arloji, corong, kertas saring, botol kaca, pipet tetes. *Flow tester, Tap density tester*(TDT-I-H), *Moisture balance, pH/ ise meter pH 240L, Hot plate stirrer, Water Bath* (MEMMERT), batang pengaduk, timbangan neraca analitik (ADAM EQUIPMENT™), pipet tetes, pipet volume, penangas air, pH meter.

3.3 Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dapat dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Universtas Buana Perjuangan Karawang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2020 sampai pada bulan Agustus 2020.

3.4 Prosedur Kerja :

3.4.1 Isolasi *Amylum*

Rimpang temu hitam *Curcuma aeruginosa Roxb.* serta rimpang temu putih *Curcuma zedoaria (Berg.) Roscoe* dilakukan dengan cara mengupas terlebih dahulu kulitnya rimpangnya, lalu dibersihkan menggunakan air, disaring menggunakan kain serta hasil filtrat diendapkan selama 24 jam, amilum yang diperoleh dioven dengan suhu 80°C sampai kering, terakhir diayak dengan menggunakan ayakan mesh 100, sehingga diperoleh serbuk amilum yang halus.

3.4.2 Uji identifikasi *Amylum*

- 1) Uji molish : Disiapkan 1 tabung reaksi, masukan ke rak tabung lalu *amilum* dimasukan sebanyak 0,5 gr pada tabung reaksi lalu masukan pereaksi Molish (α -naftol & alkohol 95%) lalu dikocok sampai berubah warna ungu pada amilum tersebut mengandung karbohidrat.
- 2) Uji benedict : Disiapkan 1 tabung reaksi, masukan ke rak tabung lalu *amilum* dimasukan sebanyak 0,5 gr pada tabung reaksi lalu ditetaskan dengan menggunakan pereaksi benedict (tembaga sulfat, natrium karbonat anhidrat, dan natrium sitrat), kocok tabung reaksi sampai berwarna biru, maka *amilum* tersebut mengandung komponen amilosa.
- 3) Uji iodium : Disiapkan 1 tabung reaksi, masukan ke rak tabung lalu masukan sampel *amilum* pada gelas tabung sebanyak 0.5 gr dan tetaskan pereaksi iodium (iodine kalium, iodida), tabung reaksi di kocok hingga berubah warna biru, maka menunjukan *amilum* mengandung komponen amilosa.

3.4.3 Uji karakteristik *Amylum*

- 1) Uji organoleptik : *Amylum* temu hitam dan temu putih di uji dengan cara dilihat, rasa, bau, warna.

- 2) Uji mikroskopik : *Amylum* temu hitam dan temu putih di simpan diatas kaca preparat yang sudah diberikan iodium, lalu kaca preparat diamati dengan menggunakan mikroskop sampai bentuk *amylum* terlihat.
- 3) Uji kompresibilitas : Diambil 100 gr bahan yang dilakukan untuk menentukan metode cetak sediaan. Kompresibilitas dapat diketahui dari persamaan nilai bobot jenis mampat dan jenis nyata.
- 4) Uji kadar air : Diambil sebanyak 1 gram bahan, masukan pada botol pada botol yng telah di panaskan pada suhu 105°C selama 30 menit. Botol dan bahan nya di timbang, lalu bahan di ratakan sampai setinggi 5mm dan dimasukan ke dalam oven lalu di oven pada suhu 105°C hingga bobot bahan tersebut tetap. Setelah di keringkan biarkan botol dalam keadaan tertutup sampai botol tersebut dingin.
- 5) Uji kelarutan : Diambil 0.5 gram bahan, masukan pada beaker gelas, kemudian beri etanol dan tambahkan 40 ml aquadest. Sampel diaduk pada temperatur suhu 20-30°C selama 30 menit, kemudian disentrifugasi dan di saring. Filtrat yang di dapat kemudian di uap kan hingga kering pada suhu 105°C dan residu yang di dapat ditimbang untuk menentukan jumlah yang terlarut.
- 6) Uji sifat alir : Diambil 50 gr masukan kedalam corong alir, *amylum* dituang melalui tepi corong secara perlahan kedalam corong yang bagian bawahnya tertutup. Tutup corong bagian bawah dibuka secaraperlahan-lahan dan *amylum* dibiarkan mengalir hinggakeluarmembentuk kerucut. Dicatat waktu yang diperlukan (detik) dengan menggunakan stopwatch sampai semua *amylum* keluar dari corong.
- 7) Uji pH : Diambil 1 gram bahan lalu dicampurkan dengan larutan 20ml air bebas CO₂, lalu dicek dengan alat *pH/ ise meter pH 240L* untuk menentukan keasaman atau kebasaan suatu larutan dengan pHnya.

- 8) Uji susut pengeringan : Diambil 1gr bahan dan dilakukan pengeringan pada temperatur 105°C selama 30 menit atau sampai dengan berat konstan, dengan dinyatakan sebagai nilai persen (%).

3.4.4 Skrining Fitokimia

Pemeriksaan metabolik sekunder dilakukan dengan metode skrining fitokimia sebagai berikut :

1. Pemeriksaan Alkaloid

Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada tabung reaksi setelah diberi reagen kloroform dan amonia yang pertama dan timbulnya endapan berwarna coklat kemerahan pada tabung reaksi kedua (Endarini, 2016).

2. Pemeriksaan Flavonoid

Timbang 1gr serbuk *amylum* lalu ditambahkan 50mL air panas, dididihkan selama 5 menit, lalu disaring, Filtrat yang dihasilkan ditambahkan sedikit serbuk Mg dan 5ml HCL 2N, kemudian tambahkan amil alkohol, kocok kuat-kuat dan biarkan sampai memisah. Terbentuknya warna kuning sampai merah (atau suatu warna ekstrak tertentu) yang dapat ditarik dengan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid (Endarini, 2016).

3. Pemeriksaan Tanin

Terdapat kandungan tanin ditandai dengan timbulnya warna hijau gelap maupun hijau kebiruan. Suatu ekstrak bagian tanaman yang mengandung tanin jika terbentuk endapan putih, setelah diberi larutan gelatin 1% yang mengandung NaCl 10% (Endarini, 2016).

4. Pemeriksaan Saponin

Ditimbang serbuk *amylum* sebanyak 0,5 gram lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 10 ml air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat selama 10 detik. Jika sudah terdapat buih yang banyak selama tidak kurang dari 10 menit dengan tinggi 1 cm sampai 10

cm dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida menunjukkan adanya saponin pada sampel (Endarini, 2016).

5. Pemeriksaan Terpenoid dan Steroid

Ditimbang serbuk amylum sebanyak 5 gram lalu diekstraksi sebanyak 10 ml kemudian disaring. Ekstrak yang telah diperoleh diambil sedikit dan biarkan menguap, lalu ditambahkan dengan 3 tetes anhidrida asetat kemudian ditambahkan lagi 1 tetes asam sulfat pekat. Terdapatnya senyawa terpenoid dengan ditandai timbulnya warna merah sedangkan adanya senyawa steroid ditandai dengan adanya warna biru pada sampel (Endarini, 2016).

3.5 Diagram Alir Penelitian

