

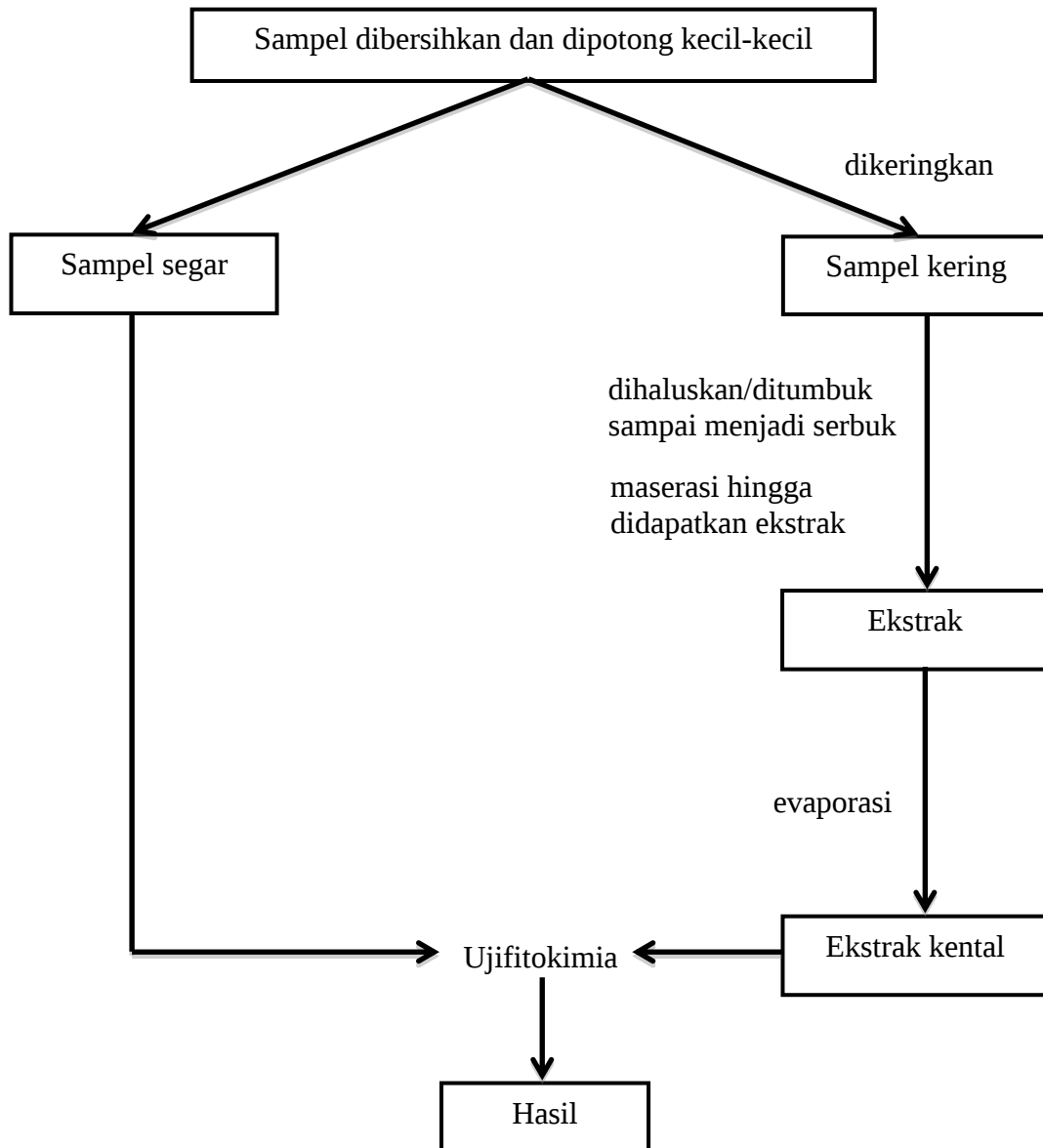
BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini akan menggunakan desain penelitian diagram kerja.

Diagram kerja yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :



3.2 Tempat Penelitian

Tempat : Gedung J Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara

Waktu : 3 semester (semester 4 – semester 7)

Februari2013–Desember2014

3.3 Cara Kerja Penelitian

3.3.1 Identifikasi tanaman

Identifikasi tanaman dilakukan di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi – LIPI, Cibinong – Bogor. Bahwa benar tumbuhan yang diteliti adalah Sirih (*Piper betle* Linn) dari suku *Piperaceae*.

3.3.2 Instumen Penelitian

3.3.2.1 Alat-alat :

- Tabung reaksi
- Penangas air
- Pipet tetes
- Alat maserasi
- Rotary evaporator
- Plat tetes/reaksi
- Gelas kimia, erlenmeyer
- Timbangan
- Blender
- Lumpang porselen

3.3.2.2 Bahan-bahan :

- Sampel
- Ammonia 10 %
- CHCl_3 / kloroform
- HCl 1N
- Pereaksi Dragendorf
- Pereaksi Meyer

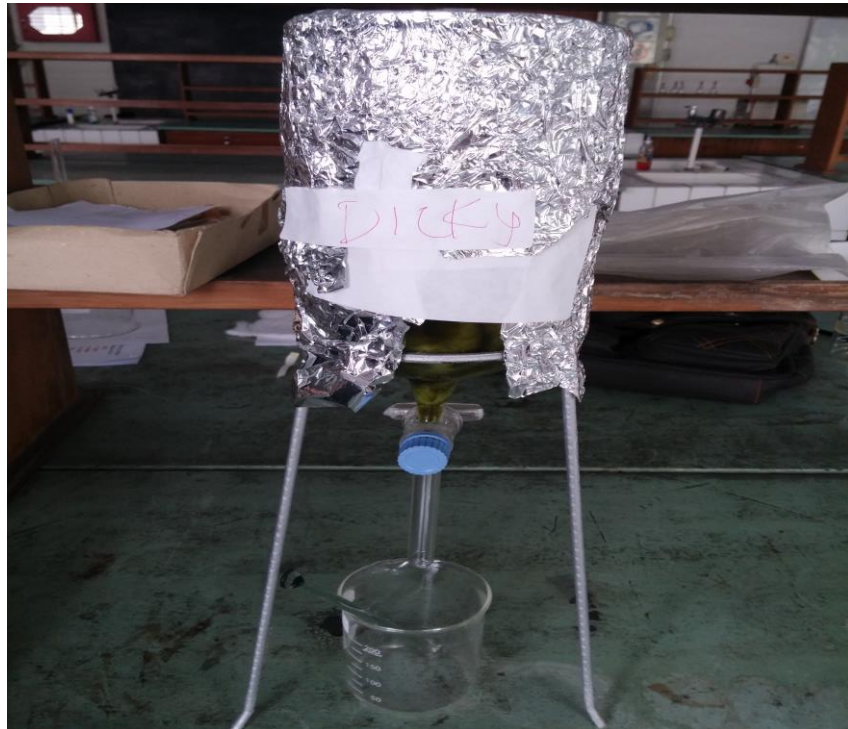
- Pereaksi Bouchardat
- Campuran logam magnesium
- Klorida 2 %
- Air panas
- NaOH 1%
- FeCl₃ 1%
- Glatin 10 %
- Pereaksi Lieberman Burchard (H₂SO₄ dan asam asetat anhidrat)
- Ethanol
- Eter
- Petroleum Eter

3.3.3 Persiapan sampel

Sampel daun sirih (*Piper betle* Linn) diambil dari Ende - Flores, NTT sejumlah 3,5 kilogram. Daun sirih (sampel) yang telah kita bersihkan dipotong hingga menjadi bagian yang kecil, lalu dibagi menjadi 2 bagian, sampel basah yang langsung diuji dan sampel ekstrak yang dikeringkan. Setelah kering sampel digiling menggunakan mesin penggiling sampai menjadi serbuk halus daun sirih seberat 650 gram.

3.3.4 Ekstraksi

Serbuk daun sirih diekstraksi sebanyak 500 gram dengan cara maserasi dengan menggunakan petroleum ether sebanyak kurang lebih 2 liter dan didiamkan selama 3 x 24 jam, lalu di dapatkan ekstrak. Ekstrak yang didapat dievaporasi sehingga menghasilkan ekstrak kental berwarna hijau gelap yang digunakan untuk penelitian uji fitokimia.¹⁴



Gambar 3.1 Proses maserasi



Gambar 3.2 Proses evaporasi

3.3.5 Uji Fitokimia

a. Alkaloid

1. Sampel segar

Sampel segar sebanyak kurang lebih 4 gram ditumbuk menggunakan lumpang porselen. Sampel dibasahkan dengan kloroform lalu ditambahkan dengan amoniak 10 %. Lalu digerus dan dikocok. Lapisan atas diambil dengan menggunakan pipet yang telah diberi kapas lalu ditambahkan asam sulfat 2N dan di kocok.¹⁵ Diambil fasa airnya lalu dibagi 2 pada masing – masing bagian ditambahkan :

- Pereaksi Dragendorff (hasil positif jika terdapat endapan jingga)
- Pereaksi Meyer (hasil positif jika terdapat endapan putih)

2. Sampel ekstrak

Sampel kering berupa ekstrak dilarutkan menggunakan kloroform lalu ditambahkan amoniak 10 %. Lapisan atas diambil menggunakan pipet yang telah diberi kapas lalu ditambahkan asam sulfat 2N dan dikocok.¹⁵

Diambil fasa airnya lalu dibagi 2 pada masing – masing bagian ditambahkan :

- Pereaksi Dragendrof (hasil positif jika terdapat endapan jingga)
- Pereaksi meyer (hasil positif jika terdapat endapan putih)

b. Fenolik dan Tanin

1. Sampel segar

Sampel segar sebanyak kurang lebih 4 gram ditumbuk menggunakan lumpang porselen sampai halus lalu ditambahkan 10 ml metanol. Ditumbuk sampai halus.¹⁶ Saring menggunakan pipet yang telah diberi kapas. Masukkan kedalam dua tabung reaksi.

- Tabung pertama : ditambahkan FeCl_3 1% (hasil positif jika terdapat hijau/biru/ungu)
- Tabung kedua : sebagai kontrol

2. Sampel ekstrak

Sampel kering berupa ekstrak ditambah kan etanol dan ditambahkan FeCl_3 1%. Hasil positif bila terdapat endapan hijau/biru/ungu.¹⁶

c. Flavonoid

1. Sampel segar

Sampel segar sebanyak kurang lebih 4 gram ditumbuk menggunakan lumpang porselen sampai halus, lalu pindahkan ke tabung reaksi. Tambahkan metanol sebanyak 10 ml dan saring menggunakan kapas ke tabung reaksi lain. Tambahkan 2ml NaOH 10% dan dikocok 1-2 menit, lalu diamkan sampai terbentuk 2 lapisan. Ambil lapisan bawah dan pindahkan ke tabung reaksi lain. Tambahkan 1-5 tetes HCl 2N sampai warna hilang. Tambahkan 2 - 3 ml eter kemudian dikocok selama 1-2 menit dan diamkan.¹⁷ Ambil lapisan atas dan tambahkan 2-3 tetes etanol kemudian bagi ke dalam 2 tabung reaksi lain.

- Tabung pertama : ditambahkan 0,1 gram logam magnesium dan HCl pekat sebanyak 1 ml dan didiamkan selama beberapa menit (positif bila terdapat larutan/endapan kuning sampai merah)
- Tabung kedua : sebagai kontrol

2. Sampel ekstrak

Sampel kering berupa ekstrak sebanyak kurang lebih 1 ml ditambahkan 1 ml eter kocok, diamkan dan ambil lapisan atas. Tambahkan NaOH 1N kocok + 1 ml HCl pekat sampai warna hilang, pindahkan lagi ke tabung lain dan tambahkan 1 ml amil alkohol kocok, lalu dibagi ke dalam 2 tabung reaksi lain.¹⁷

- Tabung pertama : ditambahkan 0,1 gram logam magnesium dan HCl pekat sebanyak 1 ml dan didiamkan selama beberapa menit (positif bila terdapat larutan/endapan kuning sampai merah)
- Tabung kedua : sebagai kontrol

d. Saponin

Sampel ditambah air panas dan dididihkan selama 5 menit, setelah dingin disaring. Filtratnya diambil sebanyak 10 ml lalu dikocok selama 10 detik. Hasil positif jika terdapat busa.¹⁸

e. Steroid dan Triterpenoid

1. Sampel segar

Sampel segar sebanyak kurang lebih 4 gram ditumbuk menggunakan lumpang porselen sampai halus, lalu ditambahkan 10 ml kloroform dan digerus hingga halus. Saring menggunakan pipet yang telah diberi kapas. Teteskan ke 3 lubang pada plat tetes. Biarkan kering selama beberapa menit lalu ditambahkan asam asetat anhidrat kemudian diaduk dengan batang pengaduk. Lalu dibagi ke plat tetes.¹⁹

- Lubang pertama dan kedua : ditambahkan H_2SO_4 pekat sebanyak kurang lebih 1 sampai 2 tetes (positif steroid jika terdapat

larutan/endapan hijau sampai biru, positif terpenoid jika terdapat larutan/endapan merah sampai ungu)

- Lubang ketiga : sebagai kontrol

2. Sampel ekstrak

Sampel kering berupa ekstrak sebanyak kurang lebih 1 ml dilarutkan kedalam 10 ml kloroform. Hasil ekstrak diteteskan kepada 3 lubang pada plat tetes dan ditambahkan asam asetat anhidrat lalu diaduk dengan batang pengaduk.¹⁹

- Lubang pertama dan kedua : ditambahkan H_2SO_4 pekat sebanyak kurang lebih 1 sampai 2 tetes (positif steroid jika larutan/endapan terdapat warna hijau sampai biru, positif terpenoid jika terdapat larutan/endapan merah sampai ungu)
- Lubang ketiga : sebagai kontrol