#### BAB III

#### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### 3.1 Bahan dan Alat

### 3.1.1 Sampel

Sampel berupa kulit batang *Artocarpus communis* Forst (Kluweh) yang diambil dari Desa Tlogomulyo, Pedurungan, Semarang, Jawa Tengah.

#### 3.1.2 Bahan-bahan kimia

Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- 1. Metanol p.a.
- 2. Metanol teknis
- 3. Kloroform p.a.
- 4. Kloroform teknis
- 5. N-heksana p.a.
- 6. N-heksana teknis
- 7. Etil asetat p.a.
- 8. Petroleum eter p.a.
- 9. Aseton p.a.
- 10. Ferriklorida 1%
- 11. Silika gel 60 GF<sub>254</sub>
- 12. Silika Gel 60 G (230 400 mesh)
- 13. Akuades

#### 3.1.3 Alat-alat

# Alat-alat yang digunakan:

- 1. Perkolator
- 2. Erlenmeyer
- 3. Gelas ukur
- 4. Pengaduk
- 5. Sepatula
- 6. Timbangan
- 7. Botol gelas
- 8. Blender
- 9. Oven listrik
- 10. Pipet
- 11. Corong gelas
- 12. Satu set rotary evaporator
- 13. Lampu UV
- 14. Fisher John Melting Ponit Apparatus
- 15. TLC Plates alumunium sheets, silika gel 60 GF254
- 16. Satu set kromatografi kolom
- 17. Satu set kromatografi kolom vakum
- 18. Spektrofotometer IR jenis FT/IR-5300 bermerk Jasco
- 19. Spektrofotometer UV, bermerk Shimadzu
- 20. Sentrifuse

#### 3.2 Cara kerja

### 3.2.1 Persiapan sampel

Kulit batang Artocarpus communis Forst dipotong kecil-kecil dan dibiarkan mengering di udara terbuka, kemudian ditumbuk sampai menjadi serbuk.

### 3.2.2 Ekstraksi sampel

Ekstraksi dilakukan dengan cara merendam sampel (800 g) dalam perkolator selama 24 jam dengan pelarut n-heksana sebanyak 4 kali. Residu ekstrak n-heksana diekstraksi lagi dengan kloroform selama 24 jam, sebanyak 4 kali. Residu dari ekstrak kloroform diekstraksi lagi dengan metanol selama 24 jam sebanyak 4 kali. Hasil ekstrak dipekatkan hingga menjadi 10 gram krude ekstrak. Kemudian dipisahkan dengan kromatografi kolom vakum, kromatografi kolom biasa dan kromatografi lapis tipis preparatif.

### 3.2.3 Pembuatan kromatografi kolom yakum

Kolom kromatografi beserta tabung vakum dicuci dengan detergen, kemudian dibilas dengan akuades dan dibilas dengan pelarut yang akan digunakan. Alat dipasang dan dihubungkan dengan vakum kondensor.

Fasa diam silika gel ( silika gel 60 GF<sub>254</sub> untuk KLT ) dimasukkan dalam kolom vakum. Untuk memadatkannya dilakukan dengan cara menyedot kolom dengan alat vakum. Setelah fasa diam memadat, kemudian dielusi dengan pelarut metanol sebagai fasa geraknya.

### 3.2.4 Pembuatan kromatografi kolom biasa

Kolom kromatografi dicuci dengan detergen, dibilas dengan akuades, kemudian dibilas dengan pelarut yang akan digunakan.

Fasa diam (silika gel 60 G untuk kolom ) dilarutkan menggunakan pelarut kloroform dan dimasukkan pada kolom. Untuk memadatkan fasa diam, kolom dielusi menggunakan kloroform sambil dipukul perlahan-lahan.

## 3.2.5 Kromatografi lapis tipis

Kromatografi lapis tipis bertujuan untuk mengetahui jumlah komponen dalam sampel dan kualitas pemisahan suatu pelarut. Sebagai fasa diam digunakan silika gel 60 GF<sub>254</sub> dan sebagai fasa geraknya digunakan beberapa eluen seperti : n-heksana, kloroform, etil asetat, metanol dan campuran diantara eluen-eluen tersebut.

Sampel ditotolkan menggunakan pipa kapiler dalam lempeng kromatografi lapis tipis kemudian dielusi dengan fasa geraknya. Sebagai penampak bercak digunakan lampu UV.

### 3.2.6 Pemisahan dengan kromatografi

### 3.2.6.1 Kromatografi kolom vakum

Sebanyak 7,5 gram sampel dimasukkan dalam kromatografi kolom vakum dan dielusi dengan kloroform, sampai tidak ada senyawa yang turun. Setiap elusi digunakan 50 ml eluen dan dihisap dengan vakum kondensor. Eluat yang dihasilkan ditampung dalam botol diberi nomor 1, 2, 3, .... dan seterusnya. Fraksi dengan nomor I kemudian dianalisis lebih lanjut.

#### 3.2.6.2 Kromatografi kolom biasa

Sebanyak 0,55 gram fraksi I dimasukkan dalam kromatografi kolom biasa dan dielusi dengan kloroform. Eluat yang dihasilkan ditampung dalam botol kecil 5 ml dan diberi nomor 1, 2, 3, ....dan seterusnya. Masing-masing botol dikromatografi lapis

tipis. Eluat dengan harga Rf sama dikumpulkan menjadi satu fraksi, diberi nomor A, B, C,....dan seterusnya. Fraksi dengan nomor B kemudian dipekatkan.

### 3.2.6.3 Kromatografi lapis tipis preparatif

Fraksi B diatas dilarutkan dalam kloroform kemudian ditotolkan pada lempeng KLT. Sebagai fasa diam digunakan silika gel 60 GF<sub>254</sub> dan kloroform sebagai fasa geraknya. Noda yang dihasilkan dikerok dan dilarutkan dengan kloroform pada tabung reaksi. Untuk mendapatkan senyawa, filtrat diambil dengan penyaringan, setelah disentrifuse terlebih dahulu. Filtrat diuapkan pada suhu kamar sehingga diperoleh suatu padatan.

#### 3.2.7 Pemurnian

Padatan yang diperoleh dari KLT preparatif dicuci dengan petroleum eter dan metanol berulang kali. Setelah kering padatan dilarutkan pada metanol dengan pemanasan perlahan-lahan. Larutan yang diperoleh dibiarkan sehingga terbentuk kristal.

#### 3.2.8 Analisis senyawa hasil isolasi

### 3.2.8.1 Pengujian senyawa fenolik

Kristal ditambah akuades kemudian dipanaskan hingga mendidih.

Ditambahkan larutan FeCl<sub>3</sub> 1% dalam larutan tersebut.

### 3.2.8.2 Uji kromatografi lapis tipis

Senyawa hasil isolasi dilarutkandalam kloroform, kemudian ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis berfasa diam silika gel 60 GF $_{254}$  dengan eluen kloroform dan etil asetat. Sebagai penampak bercak digunakan lampu UV.

## 3.2.8.3 Uji titik leleh

Sejumlah kristal ditempatkan pada plat kaca Fisher John Melting Point.

Kemudian diamati sampai senyawa terlihat menjadi cairan.

### 3.2.8.4 Analisis Spektra Infra Merah (IR)

Sebanyak satu miligram senyawa hasil isolasi dibuat pelet dengan 100 mg kalium bromida dan dianalisis spektrofotometer IR.

# 3.2.8.5 Analisis Spektra Ultra Violet (UV)

Sejumlah cuplikan dilarutkan dalam metanol kemudian dimasukkan dalam kuvet dan dianalisa dengan spektrofotometer UV. Spektra yang dihasilkan menunjukkan panjang gelombang maksimum yang diserap oleh senyawa sampel. Skema kerja yang telah dilakukan dapat dilihat pada lembar lampiran I.