

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1. Sampel, Bahan dan Alat**

##### **3.1.1. Sampel**

Sampel berupa daun srikaya lokal, jenis srikaya gading yang dikumpulkan dari kebun tradisional Wonosari, Yogyakarta.

##### **3.1.2. Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan sebagai berikut :

- n-Heksana
- metanol
- etil asetat
- kloroform
- etanol
- diklorometana
- butanol
- aquades
- plat KLT silika gel Merck Kiesiegel 60 F<sub>254</sub>
- silika gel G<sub>60</sub>
- silika gel H
- feriklorida
- asam sulfat pekat
- asam klorida



- asam asetat anhidrat
- pereaksi Dragengroff

### 3.1.3. Alat

Peralatan yang mendukung penelitian ini antara lain :

- gelas ukur 5 mL, 10 mL, 100 mL
- erlemeyer 250 mL
- gelas arloji
- pengaduk
- spatula
- pipet tetes
- corong kaca
- plat kaca 20 x 20 cm
- maserator
- chamber KLT
- vial 10 mL
- botol 100 mL
- labu ukur 100 mL
- oven
- statif 1 set
- kromatografi kolom vakum
- penguap vakum putar
- alat soklet
- lampu UV spectrolin



- electhermal I A 9000 series
- UV – Vis Milton Ray Spectronic 3000
- IR SHIMADZU FTIR-820 IPC

### 3.2. Metode Kerja

Penelitian dilakukan di laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro, laboratorium Pusat Penelitian Obat Tradisioanal dan analisis spektrometer UV – IR dilakukan di laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Gadjah Mada.

#### 3.2.1. Penapisan Fitokimia

Sebanyak satu gram serbuk daun *Annona squamosa* diekstraksi dengan metanol. Pada ekstrak ini dilakukan penapisan fitokimia meliputi analisis golongan triterpena, steroid, alkaloid, saponin dan fenolik.

- **Uji Triterpena dan Steroid**

Satu tetes asam sulfat pekat diteteskan pada sampel yang telah dicampur dengan 10 tetes asam asetat anhidrat. Adanya triterpena ditandai dengan perubahan warna merah ungu, sedangkan warna biru menunjukkan adanya steroid.

- **Uji Fenolik**

Sebanyak 1 gram feriklorida ditempatkan dalam labu takar 100 mL, diencerkan dengan aquades sampai tanda batas dan ditambahkan asam klorida. Larutan 1% feriklorida tersebut diteteskan pada sampel. Jika terjadi perubahan warna sampel menjadi kuning, hijau atau merah menandakan sampel positif terhadap senyawa fenolik.

- **Uji Alkaloid**

Sampel ditambahkan pereaksi Dragendroff. Hasil positif diperoleh jika didapatkan endapan putih.

- **Uji Saponin**

Sampel ditambahkan aquades dan didihkan, setelah dingin dikocok kuat-kuat.

Adanya saponin ditunjukkan oleh adanya busa yang stabil selama 30 menit.

### **3.2.2. Pembuatan Ekstrak**

Daun srikaya kering dihaluskan sampai menjadi serbuk. Sebanyak 2000 gram serbuk diekstraksi secara berkesinambungan menggunakan n-heksana. Ampas yang diperoleh dimasukkan dalam maserator, dimaserasi dengan metanol selama 8 x 24 jam. Hasilnya berupa filtrat berwarna hijau tua sampai hijau muda. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan penguap vakum putar sehingga didapatkan ekstrak pekat berwarna hitam. Ekstrak yang didapatkan siap dianalisis lebih lanjut.

### **3.2.3. Isolasi Senyawa**

Ekstrak dianalisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) terlebih dahulu kemudian dipisahkan melalui kromatografi kolom vakum dengan eluen yang kepolarannya terus ditingkatkan dari n-heksana sampai n-heksana-etil asetat. Penggabungan setiap fraksi yang dimonitor berdasarkan analisis KLT menghasilkan empat fraksi. Fraksi pertama yang berwarna kuning, setelah dicuci berulang kali dengan n-heksana, menghasilkan endapan kuning muda yang pada kristalisasi dan rekristalisasi dari n-heksana sampai metanol menghasilkan padatan putih dan dianalisis dengan KLT untuk selanjutnya disebut senyawa I. Sedangkan 62 fraksi gabungan dari fraksi keempat (botol ke-213 – 275) dimurnikan dengan KLT

preparatif, didapatkan cairan kuning dan dianalisis dengan KLT sehingga disebut senyawa II.

#### **3.2.4. Analisis Hasil**

Terhadap isolat dilakukan analisis dengan KLT kemudian diuji golongannya. Untuk padatan ditentukan titik lelehnya, dilanjutkan pemeriksaan secara spektroskopi UV dan IR untuk mengetahui spektranya.

