BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Sampel, Bahan dan Alat

3.1.1. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berupa rimpang bengle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) yang diperoleh dari daerah Boja, Kabupaten Kendal Jawa Tengah.

3.1.2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah n-heksana t, etil asetat t, metanol t, dan akuades yang dipergunakan sebagai pelarut. Silika gel GF^{254} sebagai fasa diam kromatografi kolom vakum, dan plat TLC E Merck GF^{254} untuk menganalisis komponen dalam sampel dengan metode kromatografi lapis tipis. Untuk pengembang dalam kromatografi lapis tipis digunakan: metanol p.a., etil asetat p.a., n-heksana p.a., Sedangkan reagen $FeCL_3$ 1 % digunakan untuk uji golongan senyawa fenolik.

3.1.3. Alat

Penelitian ini menggunakan peralatan laboratorium yang umum, yaitu satu set alat sokslet untuk pembebasan lemak, satu set alat maserasi, Rotaryevaporator merk Buchii. Kromatografi kolom vakum untuk pemisahan senyawa, lampu UV merk spektroline, alat fisher john melting point untuk menentukan titik leleh,

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

spektrofotometer IR merk SHIMADZU, dan GC-MS QP 5000 merk SHIMADZU untuk menentukan struktur molekul senyawa hasil isolasi.

3.2. Metode Kerja

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro Semarang, analisis spektroskopi IR dan GC-MS dilakukan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

3.2.1. Preparasi Bahan

Rimpang bengle segar sebanyak 3 kg dicuci bersih, dikeringkan dan kemudian diiris tipis. Irisan rimpang tersebut diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung, setelah kering irisan rimpang tersebut dibuat serbuk dengan menggunakan blender sehingga didapatkan serbuk kering sebanyak 700 gram.

3.2.2. Pembebasan Lemak

Serbuk bengle yang telah dikeringkan dibebaskan lemaknya dengan metode soksletasi. Soksletasi dilakukan dengan menggunakan pelarut n-heksana hingga pelarut berwarna jernih.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

3.2.3. Maserasi

Serbuk bengle bebas lemak dimaserasi dengan metanol sampai warna maserat bening yang menandakan semua zat terekstrak. Maserat ditampung dan diuapkan dengan Rotaryevaporator sehingga didapatkan ekstrak metanol.

3.2.4. Pemisahan dan Pemurnian Komponen

Terhadap ekstrak metanol dilakukan kromatografi lapis tipis yang berfungsi untuk menentukan jumlah komponen dalam ekstrak tersebut. Pelarut yang digunakan dalam kromatografi lapis tipis adalah gradien pelarut dari n-heksana, etil asetat, dan metanol. Terhadap ekstrak metanol tersebut dilakukan kromatografi kolom vakum dengan pelarut n-heksana:etil asetat (6:4), karena pelarut ini merupakan pelarut terbaik hasil dari kromatografi lapis tipis. Fraksi-fraksi hasil dari kromatografi kolom dianalisis jumlah komponennya dengan menggunakan kromatografi lapis tipis. Fraksi terbaik dilakukan kristalisasi dan rekristalisasi sehingga didapatkan kristal.

Gradien pelarut kromatografi lapis tipis dari non polar sampai polar:

n- heksan	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	-
Etil asetat	-	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

Etil asetat	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	-
Metanol	-	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

3.2.5. Analisis Struktur

Terhadap kristal yang didapat dilakukan beberapa analisis. Analisis terhadap komponen dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dua dimensi, dan penentuan titik leleh dengan alat fisher john melting point. Analisis struktur dilakukan dengan menggunakan spektroskopi infra merah dan kromatografi gas-spektroskopi massa (GC-MS). Analisis dengan GC-MS dilakukan dengan kondisi sebagai berikut:

- Jenis Pengion : EI (Elektron Impack)
- Jenis Kolom : DB – I (dengan panjang 30 m)
- Suhu Kolom : 230-280°C
- Gas Pembawa : Helium 15 kpa
- Model Injektor : Spil 0,6:132 (suhu 280°C)
- Suhu Detektor : 280°C

3.2.6. Uji dengan Reagen $FeCl_3$ 1%

Senyawa hasil isolasi ditambah dengan air dan dipanaskan hingga mendidih. Air rebusan dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan larutan $FeCl_3$ 1% ke dalamnya. Adanya senyawa fenol ditandai dengan terjadinya perubahan warna dari hijau sampai hitam.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)