

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Sampel

Sampel yang digunakan adalah tauco komersial yang diperoleh dari Pekalongan, Jawa Tengah.

3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. *n*-heksana (C₆H₁₄) teknis
2. Metanol (CH₃OH) teknis
3. Asam klorida (HCl) 2N
4. Eter teknis
5. Plat TLC Silika Gel GF₂₅₄
6. Silika Gel G₆₀ 240-400 mesh (Merck)
7. Metanol p. a.
8. Etil asetat p. a
9. Diklorometana teknis
10. Diklorometana p. a.
11. Amonia (NH₃) pekat
12. Feri klorida (FeCl₃) 1% dalam HCl
13. Logam magnesium (Mg) serbuk
14. Natrium Hidroksida (NaOH) 2M
15. Natrium asetat (CH₃COONa) serbuk
16. Asam borat (H₃BO₃) p.a
17. Aluminium klorida (AlCl₃) dalam metanol
18. Asam klorida (HCl) 50%
19. Kloroform p.a

3.3 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah:

1. Soxhlet
2. Labu alas bulat
3. Kondensor
4. Corong pisah
5. Evaporator putar merek Buchi
6. Satu set alat kromatografi kolom vakum
7. Lampu UV
8. Spektrofotometer UV-Vis Hitachi U-2001
9. Peralatan gelas yang biasa digunakan dalam laboratorium

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Isolasi isoflavon dari tauco

Sebanyak 2 kg tauco basah dikeringkan, sehingga didapatkan 0,8 kg tauco kering, lalu dihaluskan hingga menjadi serbuk. Penghilangan lemak serbuk tauco dilakukan menggunakan 800 mL *n*-heksana. Serbuk tauco bebas lemak diekstraksi menggunakan methanol, lalu dihidrolisis menggunakan 4,2 L HCl 2N, kemudian diekstraksi menggunakan 420 mL eter, selanjutnya dikeringkan. Empat gram sampel kering difraksinasi menggunakan kromatografi kolom vakum menggunakan eluen terbaik, yang ditentukan terlebih dahulu menggunakan TLC, yaitu diklorometan.

Dari proses kromatografi kolom vakum, dihasilkan 4 fraksi, yaitu fraksi awal yang berupa cairan kuning jernih (fraksi A), fraksi kedua berupa cairan kuning kental

(fraksi B), fraksi ketiga berupa padatan kuning bercampur gel coklat (fraksi C), dan yang terakhir, yaitu padatan kuning yang cukup banyak tetapi masih bercampur dengan gel coklat (fraksi D).

3.4.2 Identifikasi senyawa

Uji pendahuluan yang dilakukan pada keempat fraksi (fraksi A, B, C, dan D) meliputi pengamatan wujud fisik dan uji khusus flavonoid. Pada uji khusus flavonoid, cuplikan dari masing-masing fraksi direaksikan dengan serbuk Mg dan HCl.

Uji warna noda dilakukan terhadap cuplikan masing masing fraksi yang sebelumnya dielusi menggunakan diklorometan pada plat TLC. Noda yang terbentuk pada plat TLC selanjutnya uji dengan FeCl_3 1%, uap NH_3 dan AlCl_3 . Berdasarkan uji pendahuluan serta uji warna noda, dipilih fraksi D untuk diidentifikasi lebih lanjut.

Spektrofotometri UV-Vis. Cuplikan fraksi D yang dilarutkan dalam metanol, diukur absorbansi maksimalnya. Selain itu, cuplikan juga ditambahkan pereaksi geser seperti NaOH, CH_3COONa , $\text{CH}_3\text{COONa}/\text{H}_3\text{BO}_3$, AlCl_3 , dan AlCl_3/HCl , lalu diamati pergeserannya.