

## **BAB IV**

### **PROSEDUR PERCOBAAN**

#### **4.1. Pengumpulan Bahan**

Bahan yang akan digunakan yaitu daun srikaya dikumpulkan dari lebih satu pohon tetapi dari satu lingkungan yang sama yang diambil dari pedalaman Pontianak Provinsi Kalimantan Barat. Determinasi dilakukan di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung.

#### **4.2. Penapisan Fitokimia**

##### **4.2.1. Senyawa alkaloid**

Sebanyak 2 gram serbuk ditempatkan kedalam mortar basah, lalu ditambahkan 5mL amoniak 25%, dicampur kemudian digerus kembali dengan kuat. Campuran disaring kemudian filtrat larutan organik diambil sebagai larutan A. Sebagian filtrat A dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan asam klorida 10% v/v. Fraksi air dipisahkan sebagai larutan B. Larutan A diteteskan pada kertas saring, lalu disemprotkan dengan pereaksi Dragendroff dan terbentuknya warna merah atau jingga pada kertas menunjukkan adanya golongan senyawa alkaloid. Larutan B dibagi menjadi 2 bagian di dalam tabung reaksi, tabung pertama ditambahkan pereaksi Dragendroff, dan tabung kedua ditambahkan pereaksi Mayer. Terbentuknya endapan merah bata dengan pereaksi dragendroff atau

endapan putih dengan pereaksi Mayer menunjukkan adanya golongan senyawa alkaloid (Harborne, 1987).

#### **4.2.2. Senyawa polifenolat**

Serbuk sebanyak 1 gram ditempatkan pada tabung reaksi lalu ditambahkan air secukupnya, lalu dipanaskan di atas penangas air dan disaring. Kepada filtrat ditambahkan larutan pereaksi besi (III) klorida dan timbulnya warna hijau atau biru-hijau, merah ungu, biru-hitam hingga hitam menandakan positif fenolat atau timbul endapan coklat menunjukkan adanya fenolat (Harborne, 1987).

#### **4.2.3. Senyawa flavonoid**

Serbuk sebanyak 1 gram ditempatkan pada gelas kimia, lalu ditambahkan 100mL air panas dan didihkan selama 10 menit. Kemudian campuran disaring, filtrat ditampung sebagai larutan C yang nantinya akan digunakan untuk pemeriksaan golongan senyawa flavonoid, saponin, dan kuinon. Larutan C sebanyak 5mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan serbuk magnesium dan 1mL asam klorida pekat. Campuran ditambahkan amil alkohol, dikocok dengan kuat lalu dibiarkan hingga terjadi pemisahan. Terbentuknya warna dalam lapisan amil alkohol menunjukkan adanya golongan senyawa flavonoid (Harborne, 1987).

#### **4.2.4. Senyawa saponin**

5mL larutan C dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu dikocok selama 10 detik. Dibiarkan selama 10 menit, kemudian diamati. Terbentuknya busa 1cm yang stabil didalam tabung reaksi menunjukkan

adanya golongan senyawa saponin. Busa tersebut masih tetap ada setelah ditambahkan beberapa tetes asam klorida (Harborne, 1987).

#### **4.2.5. Senyawa quinon**

5 mL larutan C dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan beberapa tetes larutan Natrium hidroksida 1 N. terbentuknya warna kuning hingga merah menandakan adanya golongan senyawa kuinon (Harborne, 1987).

#### **4.2.6. Senyawa tanin**

Sebanyak 1 gram ditambahkan 100mL air panas, kemudian dididihkan selama 15 menit. Campuran kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian didalam tabung reaksi. Filtrat pertama ditambahkan larutan besi (III) klorida 1%. Terbentuknya warna biru atau hitam kehijauan menunjukkan adanya golongan senyawa tanin. Filtrat kedua ditambahkan putih telur 1%, terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya golongan tannin, dan filtrat ketiga ditambahkan 15 mL pereaksi Tiasny, lalu dipanaskan diatas penangas. Terbentuknya endapan merah muda menunjukkan adanya tannin katekat. Hasil uji filtrat ketiga disaring, kemudian dijenuhkan dengan ditambahkan natrium asetat, kemudian beberapa tetes larutan besi (III) klorida 1%. Terbentuknya warna biru tinta menunjukkan adanya tannin galat (Harborne, 1987).

#### **4.2.7. Senyawa monoterpen dan sesquiterpen**

Sebanyak 1gram serbuk digerus dengan eter lalu disaring. Filtrat yang didapat ditempatkan didalam cawan penguap dan dibiarkan menguap

hingga kering, lalu ditambahkan vanillin 10% dalam asam klorida pekat dan timbulnya warna-warna menandakan positif mengandung senyawa monoterpen dan sesquiterpen (Harborne, 1987).

#### **4.2.8. Senyawa triterpenoid dan steroid**

Serbuk 1 gram di gerus dengan eter lalu disaring. Filtrat yang didapat ditempatkan dalam cawan penguap lalu dibiarkan mengering, kemudian ditambahkan larutan pereaksi Lieberman-Burchard dan terbentuknya warna merah ungu menandakan adanya senyawa terpenoid, sedangkan bila warnanya hijau-biru menandakan positif adanya steroid (Harborne, 1987).

#### **4.3. Ekstraksi**

Dilakukan ekstraksi dengan cara maserasi pada simplisia daun srikaya. Timbang sebanyak 300 gram simplisia, masukkan ke dalam alat maserator lalu ratakan permukaan simplisia di dalam maserator. Tambahkan etanol 96% ke dalam maserator dengan perbandingan antara simplisia dengan pelarut adalah 1:5 lalu dibiakan selama 24 jam. Setelah filtrat tertampung lalu berikutnya adalah dievaporasi dengan alat rotary evaporator untuk menguapkan etanol dan dipekatkan diatas penangas air dengan menggunakan cawan penguap supaya didapatkan ekstrak daun srikaya yang pekat.

#### 4.4. Penetapan Kadar Air

Menggunakan metode gravimetri yaitu kurang lebih timbang 2 gram simplisia kemudian dimasukkan kedalam wadah yang telah ditara. Dikeringkan pada suhu 105° C selama 1 jam dan ditimbang. Pengeringan dilanjutkan dan ditimbang pada jarak satu jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Depkes RI, 2000 : 16).

#### 4.5. Induksi Luka

Sebelum mencit dilukai induksi dilakukan yaitu dengan cara mencit dibius dengan ketamin disuntikan secara intravena dengan dosis 2 mg/kg berat badan manusia yang dikonversikan kepada berat badan mencit yaitu 0,0052mg/kg berat badan mencit, kemudian diletakkan di atas bak bedah dengan posisi telungkup dan keempat kaki diikat. Dicukur rambut disekitar punggung bagian tengah mencit, kemudian dibersihkan dengan kapas yang dibasahi alkohol 70%. Untuk membuat luka berbentuk lingkaran, kulit diangkat dengan pinset dan digantung pada bagian tersebut sampai bagian dermis dan jaringan ikat dibawahnya dengan diameter 0,5 cm. Luka dibuat pada masing-masing punggung mencit.

#### **4.6. Uji Efek Penyembuhan Luka**

Pada pengujian efek penyembuhan luka, perlakuan yang dilakukan adalah luka yang dibuat pada punggung mencit yang berdiameter 0,5cm masing-masing kelompok diberi sediaan yang berbeda yaitu kelompok 1 (kontrol), kelompok 2 (basis), kelompok 3 (salep ekstrak daun srikaya 5%), kelompok 4 (salep ekstrak daun srikaya 10%), kelompok 5 (ekstrak kental daun srikaya) dan kelompok 6 (salep povidon iodine 10%). Masing-masing sediaan dioles tipis pada luka sampai luka tertutup rata oleh sediaan, pemberian sediaan diusahakan sama banyaknya pada setiap kelompok. Pengamatan dilakukan tiga kali dalam rentang waktu 8 jam setiap harinya yaitu pada jam 8,12 dan 16. Mencit dimasukkan dalam kandang yang terpisah yaitu satu kandang oleh satu mencit hal ini untuk mencegah terjadinya keparahan luka akibat berinteraksi dengan mencit yang lain.

#### **4.7. Analisis Data**

Dari data yang diperoleh maka dilakukan analisis data. Parameter yang diamati mulai dari waktu luka kering, waktu terbentuk keropeng sampai mengelupas keropeng. Uji statistik yang dilakukan adalah uji Mann withney (U test) untuk membandingkan waktu proses penyembuhan luka yaitu antara uji dan pembanding dibandingkan dengan kontrol, uji dibandingkan dengan pembanding juga ekstrak dibandingkan dengan sediaan.